



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNO LEANDRO PEREIRA

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O NIÓBIO E LIGAS Ti-Nb SUBMETIDOS À  
OXIDAÇÃO POR PLASMA ELETROLÍTICO EM ETAPAS PARA APLICAÇÕES  
BIOMÉDICAS

CURITIBA

2020

BRUNO LEANDRO PEREIRA

ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O NIÓBIO E LIGAS Ti-Nb SUBMETIDOS À  
OXIDAÇÃO POR PLASMA ELETROLÍTICO EM ETAPAS PARA APLICAÇÕES  
BIOMÉDICAS

Tese de doutorado apresentado como  
requisito parcial à obtenção de grau  
de Doutor. Área de concentração:  
Engenharia e Ciência dos Materiais,  
Programa de Pós-Graduação em  
Engenharia e Ciência dos Materiais -  
PIPE. Setor de Tecnologia,  
Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Carlos Maurício  
Lepienski

CURITIBA

2020

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas, UFPR  
Biblioteca de Ciência e Tecnologia

---

P436e Pereira, Bruno Leandro

Estudo comparativo entre o nióbio e ligas Ti-Nb submetidos à oxidação por plasma eletrolítico em etapas para aplicações biomédicas [recurso eletrônico] / Bruno Leandro Pereira – Curitiba, 2020.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais – PIPE.

Orientador: Carlos Maurício Lepienski

1. Titânio. 2. Nióbio. 3. Oxidação. I. Universidade Federal do Paraná. II. Lepienski, Carlos Maurício. III. Título.

CDD: 660.297

---

Bibliotecária: Roseny Rivelini Morciani CRB-9/1585





MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS EXATAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E  
CIÊNCIA DOS MATERIAIS - 40001016033P9

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **BRUNO LEANDRO PEREIRA** intitulada: **ESTUDO COMPARATIVO ENTRE O NIÓBIO E LIGAS Ti-Nb SUBMETIDOS À OXIDAÇÃO POR PLASMA ELETROLÍTICO EM ETAPAS PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS**, sob orientação do Prof. Dr. CARLOS MAURICIO LEPIENSKI, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 30 de Novembro de 2020,

CARLOS MAURICIO LEPIENSKI  
Presidente da Banca Examinadora

CARLOS ROBERTO GRANDINI  
Avaliador Externo (null)

GABRIEL GOETTEN DE LIMA  
Avaliador Externo (null)

GELSON BISCAIA DE SOUZA  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA)

CLAUDIA ELIANA MARINO ZARBIN  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

## RESUMO

Ligas binárias de titânio e nióbio foram produzidas com altas porcentagens de Nb (50, 80, e 90% em peso). As ligas confeccionadas apresentaram estrutura cristalina cúbica de corpo centrado, quando comparadas ao titânio comercialmente puro as ligas apresentaram resistência a corrosão superior, melhor performance em testes de viabilidade celular e módulo de elasticidade consideravelmente mais baixo. Entre as ligas produzidas, a com 50% de Nb apresentou menor taxa de corrosão, maior hidrofilicidade, melhor bioatividade e módulo de elasticidade consideravelmente mais próximo ao valor conhecido para o tecido ósseo. Após a caracterização dos substratos metálicos as ligas de nióbio foram submetidas a um processo de modificação superficial para potencializar a interação com o tecido ósseo. A modificação superficial empregada foi a oxidação por plasma eletrolítico em até quatro etapas. As etapas foram realizadas alternando-se os eletrólitos entre soluções com íons fosfato (primeira e terceira etapas) e soluções com íons de cálcio (segunda e quarta etapas). Após a oxidação na primeira etapa (eletrólito com íons fosfato), formou-se uma morfologia com esferoides nas superfícies. Os recobrimentos formados nas três etapas subsequentes mostraram-se porosos e com composição química contendo os elementos cálcio e fósforo e razão Ti/Nb próximo dos valores das respectivas ligas. As análises das superfícies oxidadas mostraram, de maneira geral, uma redução no E para valores de aproximadamente 60 GPa e melhoraram a viabilidade celular das superfícies. Entre as etapas de oxidação, destaca-se as realizadas em eletrólito com íons fosfato da terceira etapa cujas superfícies apresentaram consideravelmente mais hidrofílicas e com melhores performances em teste de bioatividade. Os resultados apresentados indicam que as ligas demonstraram um grande potencial para a aplicação como biomaterial e através da oxidação por plasma eletrolítico em etapas é possível torná-las mais adequadas para a aplicação em dispositivos implantáveis.

**Palavras-chave:** Liga de titânio,  $Ti_xNb$  ( $x = 50, 80$  e  $90\%$ ), nióbio, oxidação por plasma eletrolítico.

## ABSTRACT

Binary alloys of titanium and niobium were produced with high percentages of Nb (50, 80, and 90% by weight). The manufactured alloys presented cubic crystalline structure, superior corrosion resistance, improved performance in cell viability tests, and elastic moduli more suitable for application in biomaterials when compared to commercially pure titanium. Among the analyzed metallic substrates, the alloy with 50% of Nb showed a lower corrosion rate, greater hydrophilicity, better bioactivity, and E considerably closer to the known E value of bone tissue. After demonstrating good characteristics for application as implants, the alloys and niobium were subjected to a process of surface modification to enhance the interaction with the body environment. The surface modification employed was the plasma electrolytic oxidation in four steps. The steps were carried out alternating electrolytes solutions containing phosphate either ions and or calcium ions. After the first step, a spheroid-containing morphology was formed on the surfaces. Coatings formed on the following steps were porous, with chemical composition containing the calcium and phosphorus elements, and Ti / Nb ratio close to the values for the respective alloys. Oxidations, in general, reduced the elastic moduli to approximately constant values of 60 GPa and improved the cell viability of the surfaces. Among the oxidation steps, those carried out in electrolytes with phosphate ions were significantly more hydrophilic presenting better performances in the bioactivity test. Overall, the alloys demonstrated great potential for the application as biomaterials and through the electrolytic plasma by steps, it is possible to project them more suitably as implantable devices.

**Keywords** *Titanium alloy,  $Ti_xNb$  ( $x = 50, 80$  e  $90\%$ ), Niobium, Plasma Electrolytic Oxidation.*

Agradecimentos ao:

Prof. Dr. Carlos Maurício Lepienski pela amizade e confiança, por me acolher como estudante, por todo auxílio durante período de mestrado e doutorado e por contribuir enormemente para a minha construção de conhecimento, com projetos e ideias sempre muito inteligentes e criativos.

Prof. Dra. Neide Kuromoto pela amizade e confiança, por ter me aceitado como estudante de IC e de mestrado, que desde o início de minha caminhada de aprendizado me deu suporte, conselhos, teve muita paciência com meus primeiros passos e me ajudou muito em meu crescimento pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Michael JD Nugent e ao Dr. Gabriel G. de Lima pela amizade e confiança, por terem auxiliado este trabalho e por terem me proporcionado a fantástica experiência de ter desenvolvido parte importante deste trabalho na Irlanda.

Ao Prof. Dr. Paulo Soares, ao Prof. Irineu Mazzaro, ao Prof. Dr. Ney Mattoso, ao Prof. Dr. Gelson Sousa, ao Prof. Dra. Claudia Marino pela amizade, por toda as importantes contribuições e por sempre serem solícitos em ajudar a todos os que já integraram nosso laboratório.

Ao Prof. Dr. Carlos Roberto Grandini por proporcionar a realização deste trabalho através da confecção das ligas TiNb e compor a banca de defesa.

Aos amigos:

Érico Szameitat por todas medidas de MEV e EDS;

Leonardo Luís Dos Santos pelo auxílio com as medidas de rugosidade, ataque ácido e polimento.

Guilberth Hobold pelo auxílio com as medidas de corrosão.

Viviane Seba pelo auxílio nas medidas de viabilidade celular;

Pedro Kuroda pela produção das ligas;

*Portanto Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas. A Ele  
seja a glória perpetuamente! Romanos 11:36*

# Sumário

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1 Introdução .....</b>   | <b>16</b> |
| Biocompatibilidade .....  | 17        |
| Excelente resistência à corrosão .....  | 19        |
| Propriedades mecânicas adequadas .....  | 20        |
| Resistência ao desgaste.....  | 21        |
| Problematização.....  | 23        |
| <b>2 Objetivos.....</b>   | <b>26</b> |
| Objetivo geral .....  | 26        |
| Objetivos secundários.....  | 26        |
| <b>3 Revisão bibliográfica .....</b>  | <b>27</b> |
| Biomateriais.....   | 27        |
| Titânio.....  | 32        |
| Nióbio .....  | 34        |
| Ligas de Titânio .....  | 36        |
| Viabilidade celular do titânio e do nióbio em comparação com outros metais puros: | 36        |
| Ligas $\alpha$ -Ti .....  | 37        |
| Ligas quase $\alpha$ .....  | 37        |
| Ligas $\alpha+\beta$ .....  | 38        |
| Ligas $\beta$ .....   | 38        |
| Questionamentos atuais sobre as ligas de titânio: .....                           | 39        |
| Ligas Ti-xNb.....   | 40        |
| Plasma eletrolítico em etapas .....   | 44        |
| <b>4 Metodologia.....</b>   | <b>47</b> |
| Fabricação da ligas Ti-xNb (x= 50%, 80% e 90%) .....                              | 47        |
| Preparo da superfície das amostras.....   | 47        |
| Condições para a oxidação por plasma eletrolítico .....                           | 48        |



|  |     |
|--|-----|
| Caracterização das amostras .....  | 52  |
| <b>5 Composição química, fases cristalinas, microestrutura, propriedades mecânicas, viabilidade celular e resistência à corrosão das ligas, e dos metais Nb e Ti sem tratamento superficial.</b> ..... | 54  |
| Discussão sobre os resultados das ligas, Nb e Ti.....  | 64  |
| Conclusão a respeito das ligas e metais polidos .....  | 67  |
| <b>6 Resultados da oxidação em até quatro etapas nas ligas e no nióbio:</b> caracterização da morfologia, composição química, viabilidade celular, fases cristalinas e propriedades mecânicas.....     | 68  |
| Morfologia e porosidade.....   | 68  |
| Composição química .....   | 77  |
| Viabilidade celular, molhabilidade e rugosidade Sa.....  | 79  |
| Propriedades mecânicas.....  | 86  |
| Difração de raios-X .....  | 89  |
| Discussão a respeito do plasma eletrolítico sobre o Nb e as Ligas .....  | 91  |
| Conclusão a respeito do plasma eletrolítico sobre o Nb e as Ligas.....   | 95  |
| <b>7 Conclusão</b> .....   | 96  |
| <b>8 Anexo</b> .....   | 98  |
| Corrosão - polarização potenciodinâmica .....  | 98  |
| Cálculo do peso equivalente EW .....   | 101 |
| Molhabilidade.....   | 102 |
| Nanoindentação .....   | 104 |
| Método QCSM (quase-continuous Stiffness Measurement) .....   | 110 |
| Teste MTT para avaliação de viabilidade celular e proliferação .....   | 112 |
| <b>9 Referências</b> .....   | 114 |
| <b>10 Trabalhos realizados durante o doutorado</b> .....   | 125 |
| Artigos publicados.....  | 125 |
| Capítulos de livro aceitos .....   | 126 |
| Capítulo de livro aceito e aguardando publicação.....  | 126 |
| Artigo aceito para publicação .....  | 126 |

|   |     |
|---|-----|
| Artigos submetidos em 2020, Status: Under revision or waiting for reviewer's assignment. .... | 126 |
|---|-----|

## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. 1: Biocompatibilidade de metais e ligas utilizados frequentemente em implantes.....  | 19 |
| Figura 1. 2: Árvore representativa da falha do implante com suas principais causas <sup>57</sup> .   | 22 |
| Figura 3. 1: Módulo de elasticidade de metais e ligas metálicas utilizados como biomateriais <sup>57,124-126</sup> .....   | 32 |
| Figura 3. 2: Viabilidade celular do titânio e do nióbio comparado com outros metais em sua forma pura. Figura adaptada da referência <sup>136 137</sup> .....  | 37 |
| Figura 3. 3: Diagrama de fase da liga binária Ti-x Nb (x = porcentagem de nióbio em peso). Figura adaptada da referência <sup>141</sup> .....  | 40 |
| Figura 3. 4: Módulo de elasticidade em função da porcentagem de elemento $\beta$ -estabilizador (Ti-X, onde X = % Nb, Ta, Mo e W) usando o método de Voigt-Reuss-Hill para um único cristal. Adaptado da referência <sup>82</sup> .....  | 41 |
| Figura 3. 5 Oxidação por Plasma eletrolítico sobre a liga Ti-25Nb-25Ta realizado sem pré-camada (etapa única) e com pré-camada (Em Duas Etapas). A esquerda está posicionada a imagem obtida por microscopia eletrônica e logo abaixo está a curva de densidade de corrente da amostra sem pré-camada. A direita está apresentada imagem obtida por MEV da amostra com pré-camada e sua respectiva curva de densidade de corrente. Figura adaptada da referência <sup>91</sup> ..... | 46 |
| Figura 4. 1: Detalhes dos aparatos utilizados no experimento de anodização. 1 = contra-eletrodo de nióbio; 2 = fonte de tensão; 3 = computador; 4 = O-ring; 5 = amostra de nióbio; 6 = parafuso; 7 = polo positivo; 8 = conjunto de agitação magnética; 9 = célula eletrolítica; 10 = polo negativo. Figura adaptada da referência <sup>154</sup> .....  | 49 |
| Figura 4. 2: Nomenclatura atribuída as amostras. O número de 1-4 é referente à etapa da oxidação. P e Ca estão relacionados ao eletrólito utilizado. Os números, 90, 80 e 50 representam a porcentagem de nióbio na amostra. ....  | 52 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 5. 1: Mapeamento por EDS feito sobre as superfícies das ligas Nb50, Nb80 e Nb90 polidas. Obs: Os elementos oxigênio (proveniente de óxido natural) e silício (proveniente do abrasivo usado no polimento) foram omitidos. ....                                | 56 |
| Figura 5. 2: Espectro de difração de raios-X de amostras polidas de nióbio e liga Nb50, Nb80 e Nb90.....   | 58 |
| Figura 5. 3: Microestrutura das ligas Nb50, Nb80, Nb90 polidas e posteriormente atacadas com solução ácida. Imagens obtidas por microscopia ótica com as linhas de contorno de grãos realçadas por software de imagem. ....  | 59 |
| Figura 5. 4: Módulo de elasticidade (lado esquerdo) e dureza (lado direito) de amostras polidas de Ti, ligas Nb50, Nb80, Nb90 e do Nb na profundidade de penetração aproximada de 3 $\mu$ m. ....  | 60 |
| Figura 5. 5: Ângulos de contatos entre a superfície e gotas de água depositadas sobre a superfície polida do Nb, Ti e ligas Nb50, Nb80 e Nb90 (lado direito) e viabilidade celular em função da área das mesmas superfícies dos metais e ligas (lado esquerdo). .... | 61 |
| Figura 5. 6: Curvas de polarização potenciodinamica das ligas Nb90, Nb80 e dos metais titânio e nióbio. ....   | 64 |
|  |    |
| Figura 6. 1: Amostras das ligas Nb50 (a), Nb80 (b), Nb 90 (c), e Nb tratadas por oxidação de plasma eletrolítico na primeira etapa com ampliação de (3000x) .....  | 69 |
| Figura 6. 2: Superfície das ligas Nb50 (a), Nb80 (b), Nb 90 (c), e Nb tratadas por oxidação de plasma eletrolítico na segunda etapa com ampliação de 3000x evidenciando a presença de poros e sulcos.....  | 70 |
| Figura 6. 3: Distribuição das medidas dos diâmetros dos poros das amostras de nióbio e das ligas oxidadas na segunda etapa evidenciando a coexistência de poros nanométricos e sub-micrométricas.....  | 71 |
| Figura 6. 4: Superfície das ligas Nb50 (a), Nb80 (b), Nb 90 (c), e Nb tratadas por oxidação de plasma eletrolítico na terceira etapa com ampliação de 3000x evidenciando a presença de poros arredondados. ....  | 72 |

|  |    |
|--|----|
| Figura 6. 5: Distribuição das medidas dos diâmetros dos poros das amostras de nióbio e das ligas oxidadas na terceira etapa evidenciando a coexistência de poros nanométricos e sub-micrométricos. ....  | 73 |
| Figura 6. 6: Superfície das ligas Nb50 (a), Nb80 (b), Nb 90 (c), e Nb tratadas por oxidação de plasma eletrolítico na quarta etapa com ampliação de 3000x evidenciado a presença de poros arredondados. ....   | 75 |
| Figura 6. 7: Distribuição das medidas dos diâmetros dos poros das amostras de nióbio e das ligas oxidadas na quarta etapa evidenciando a coexistência de poros nanométricos e submicrométricos. ....   | 76 |
| Figura 6. 8: Teste de viabilidade celular (a), teste de molhabilidade (b), percentual de Ca e P (c) e rugosidade Sa nas condições: Nb50 (liga polida), Nb50-2, Nb50-3 e Nb50-4. As siglas P e Ca em (a) e (b) estão relacionados com a natureza do eletrólito utilizado.....                             | 80 |
| Figura 6. 9: Teste de viabilidade celular (a), teste de molhabilidade (b), percentual de Ca e P (c) e rugosidade Sa (d) nas condições: Nb80 (liga polida), Nb80-2, Nb80-3 e Nb80-4. As siglas P e Ca em (a) e (b) está relacionado com a natureza do eletrólito utilizado. ....                          | 82 |
| Figura 6. 10: Teste de viabilidade celular (a), teste de molhabilidade (b), percentual de Ca e P (c) e rugosidade superficial Sa (d) nas condições: Nb90 (liga polida), Nb90-2, Nb90-3 e Nb90-4. As siglas P e Ca em (a) e (b) está relacionado com a natureza do eletrólito utilizado. ....             | 83 |
| Figura 6. 11: Teste de viabilidade celular (a), teste de molhabilidade (b), percentual de Ca e P (c) e rugosidade superficial Sa (d) nas condições: Nb (liga polida), Nb-2, Nb-3 e Nb-4. As siglas P e Ca em (a) e (b) está relacionado com a natureza do eletrólito utilizado na etapa da oxidação..... | 85 |
| Figura 6. 12: Módulo de elasticidade E das amostras oxidadas nas etapas 1, 2, 3, 4 e da superfície polida das ligas e do Nb em função da profundidade de penetração do indentador. ....  | 87 |
| Figura 6. 13 Dureza H das amostras oxidadas nas etapas 1, 2, 3, 4 e da superfície polida das ligas e do Nb em função da profundidade de penetração do indentador.....  | 88 |

Figura 6. 14: Difratoograma de raios - X das amostras oxidadas da liga Nb50 (a), Nb80 (b), Nb90 (c) e Nb (d). O óxido de Ti anatase está representado pela letra “A”, o pentóxido de nióbio cristalino pela letra “O” e o fosfato de cálcio cristalino por “CaP”. ..... 91

Figura 8. 1: Curva da diferença de potencial elétrico em função da corrente i para o titânio. .... 99

Figura 8. 2: Curva de Tafel para os resultados da análise de polarização potenciodinamica do titânio. .... 101

Figura 8. 3: Representação de uma superfície hidrofílica e outra hidrofóbica. .... 104

Figura 8. 4: Em (a) é mostrado o processo durante a endentação com endentador. Em (b) mostra a superfície pós-endentação. Figura adaptada da referência <sup>96</sup>. .... 105

Figura 8. 5: Curva formada durante o processo de carregamento e descarregamento (força aplicada pela ponta) em função do deslocamento normal do nanoindentador. .... 106

Figura 8. 6: Representação da carga em função da profundidade para os regimes: a) plástico; b) parcialmente plástico; c) elástico. .... 108

Figura 8. 7: Imagem obtida por MEV da impressão deixada nanoindentação usando ponta Berkovich sobre recobrimento produzido por OPE. Figura adaptada da referência <sup>46</sup>. 109

Figura 8. 8: Exemplo de curva gerada no durante a nanoindentação pelo processo QCSM. Adaptado da referência<sup>184</sup>. .... 112

Figura 8. 9: Representação do metabolismo do MTT para o formazan em diferentes poços. O número de células está representado de maneira crescente da esquerda para a direita. .... 113



## LISTA DE TABELAS

|   |     |
|---|-----|
| Tabela 3. 1: Aplicabilidade do titânio comercialmente puro <sup>127</sup> .....   | 33  |
| Tabela 3. 2 Aplicabilidade do nióbio comercialmente puro <sup>9,126,131,132</sup> .....   | 35  |
| Tabela 3. 3: Dureza Vickers obtida pela técnica de microdureza, módulo de elasticidade e massa específica teórica adaptada da referência <sup>145</sup> .....   | 43  |
|   |     |
| Tabela 5. 1: Porcentagem em peso dos elementos químicos obtidos por EDS, densidade e rugosidade das ligas e dos metais polidos. ....                            | 57  |
| Tabela 5. 2: Parâmetros eletroquímicos obtidos pela curva de polarização ponteciodinâmica (Fig. 5.6).....   | 63  |
|   |     |
| Tabela 6. 1: Percentual atômico dos elementos presentes nos recobrimentos produzidos nas ligas 50Nb, 80Nb, 90Nb e no Nb identificados pela técnica de EDS. .... | 78  |
|   |     |
| Tabela 8. 1: Parâmetros para o cálculo do peso equivalente e valores calculados do peso equivalente para o Ti, Nb e ligas TiNb.....                             | 102 |
| Tabela 8. 2: Equações e constantes necessárias para o cálculo da dureza e do módulo de elasticidade <sup>182</sup> .....  | 107 |

## 1 Introdução

Em 2015, o mercado global de implantes foi avaliado em 4,3 bilhões de dólares. A América do Norte continua dominando o mercado de implantes ortopédicos, representando uma fatia de 53,4% do mercado<sup>1</sup>. Apesar de ter demonstrado um crescimento acentuado, o mercado de implantes ortodônticos e ortopédicos está longe da saturação. Prevê-se que Brasil, Índia e China registrem uma taxa de crescimento bem acentuada futuramente devido a uma maior conscientização da população, viabilidade comercial dos implantes, aprimoramento de infraestrutura e o crescimento do turismo médico<sup>1</sup>.

A crescente população de idosos é o fator que mais influencia o crescimento do mercado mundial de implantes, pois pessoas acima da idade dos 65 anos exibem maior risco de desenvolverem doenças degenerativas, artrite e possuem menor densidade óssea<sup>2</sup>. Outras aplicabilidades de implante que aumentam a demanda são traumas ocasionados por esportes, defeitos segmentares causados por cânceres<sup>3</sup> e acidentes com traumas mandibulares que causam segmentação óssea. Traumas mandibulares são as fraturas faciais mais comuns, pois compõem cerca de 10% dos traumatismos tratados em sala de emergência<sup>4</sup>. A utilização de implantes é também importante em traumas ocasionados de acidentes graves, onde o paciente teve perdas ósseas significativas, fraturas, perda de dentição e trauma em órgãos<sup>1</sup>.

Os metais representam a maior parcela dos biomateriais quando utilizados em tecido ósseo. Implantes metálicos para a aplicação na área de implantes tiveram seu início de uso no século XIX. O desenvolvimento de biomateriais metálicos foi primeiramente pensado para reparos ósseos em fraturas internas e fixação de ossos longos, no entanto, os processos para a colocação de implantes de ferro, ouro ou prata praticamente não obtinham sucesso pela ausência de práticas de assepsia cirúrgica que foi implementada somente em 1860<sup>5</sup>. Para atingir o desígnio de reparo ou substituição de tecido ósseo, servindo por um longo período sem rejeição de forma segura, o material utilizado para a confecção de implantes deve possuir propriedades altamente relevantes como biocompatibilidade, resistência à corrosão, propriedades mecânicas adequadas e resistência ao desgaste.

## Biocompatibilidade:

O metal para ser utilizado como implante deve ser biocompatível com o corpo humano, ou seja, não pode provocar reações adversas após implantado a partir de reações químicas e biológicas e ter uma resposta positiva do organismo <sup>6-8</sup>. Como o corpo humano é um ambiente extremamente agressivo, nenhum material é completamente inerte em seu meio <sup>9</sup>. Em biomateriais metálicos, a biocompatibilidade é obtida por materiais demonstrem baixa ou nenhuma toxicidade, não agindo como precursores cancerígenos. Alguns implantes metálicos, mesmo resistentes à corrosão, quando implantados por um longo período podem gerar complicações no organismo. A Fig. 1 apresenta uma classificação de alguns materiais metálicos utilizados frequentemente para a confecção de implantes. Os metais estão dispostos na figura de acordo com sua biocompatibilidade, sendo a biocompatibilidade crescente no sentido de baixo à cima e da esquerda para a direita.

Muitos metais que compõe ligas de implantes possuem algum tipo de função essencial ao corpo, no entanto há preocupações que ocorram reações adversas por excessos de íons provenientes destes metais no organismo.

Em ligas CrCoMo, foi verificado que micromovimentos poderiam causar a liberação de partículas da liga e a partir do particulado formado poderia haver a formação de íons metálicos de cobalto e de cromo (Cr). O Cr nas quantidades adequadas tem papel importante na regulação do açúcar no sangue. A falta de Cr pode causar hiperglicemia e glucosuria (glucose na urina) <sup>10,11</sup>. No entanto, íons de  $\text{Cr}^{+6}$  são perigosos à saúde sendo considerados agentes cancerígenos. Sais de cromato são utilizados frequentemente na indústria e foram reportadas reações alérgicas em trabalhadores como dermatites e ulcerações de pele. Após entrar na corrente sanguínea, pode danificar rins, fígado e células do sangue <sup>10,12</sup>. A dosagem letal deste íon é de 50 mg/kg corporal. Outro íon comum do Cr é o trivalente, e o excesso deste por ocasião de inalação, alimentação ou por liberação a partir de um implante pode levar a danos no DNA <sup>13,14</sup>.

O cobalto (Co) é outro elemento de traço com função vital no organismo. Ao Co é atribuído a participação na maturação de células vermelhas como um constituinte da vitamina B12. No entanto, como os outros elementos de traço, se estiver em excesso no

organismo pode causar problemas à saúde. Consumidores de cerveja que continha altos níveis de Co demonstraram cardiomiopatia. Também foram reportadas doenças pulmonares por inalação de compostos contendo Co<sup>15</sup> e dermatites<sup>16</sup>. A dose letal de Co é de 150 mg/kg corporal<sup>15,17,18</sup>. Em implantes de quadril tem sido reportado produção de partículas nas vizinhanças do implante, e em alguns casos, reações de hipersensibilidade causando danos ao tecido biológico no entorno do implante<sup>19</sup>. Em implantes de 4-5 anos de uso foi reportado contribuições em problemas neurológicos<sup>20</sup>. Entre os sintomas estão severas dores de cabeça, dolorosa fadiga muscular, inabilidade motora, dificuldades de memória e diminuição cognitiva<sup>20</sup>. Tem sido recomendado o aviso aos pacientes com implantes contendo Co sobre o risco de envenenamento em doses acima de 10 µg/L<sup>19,21</sup>.

O molibdênio (Mo) é também outro elemento que apresenta traço no organismo. Seu papel está relacionado ao metabolismo celular. As enzimas que necessitam de Mo incluem oxidases e a ausência de Mo pode causar câncer no esôfago (isso foi observado geograficamente a partir de testes em solos com diferentes concentrações de Mo)<sup>9</sup>. Comparado com Ni, Cr e Co o molibdênio é muito menos tóxico. Exposição ao Mo de trabalhadores em minas provocou irritação de pele e de olhos<sup>22,23</sup>. Uma toxicidade aguda ainda não foi reportada em humanos, no entanto doses letais foram medidas em ratos. Ingestão de doses de 10 mg/kg corporal causaram diarreia, infertilidade, baixo peso de recém-nascidos e problemas no pulmão, rim e fígado. Exposição crônica ao Mo e seus compostos pode levar a sintomas como fadiga, dores de cabeça e nas articulações<sup>22,23</sup>.

O vanádio (V) apresenta uma função bem limitada no corpo humano e pode ter uma resposta positiva ou negativa das células<sup>9</sup>. Compostos derivados quando inalados ou ingeridos, em testes feitos com animais, resultaram em carcinoses, afetaram o sistema respiratório, neurológico, sanguíneo e o fígado<sup>24,25</sup>. No entanto, não há até o presente momento uma boa compreensão dos efeitos tóxicos provocados por implantes de ligas Ti6Al4V<sup>9</sup>.

O alumínio (Al) vem sendo considerado um agente neurotóxico. Algumas pesquisas o tem associado à doença de Alzheimer<sup>26</sup> e mais recentemente ao câncer de mama. Outro elemento de liga, o níquel Ni (presente no aço 316L) é citado por alta sensibilidade em testes de alergia, também está ligado ao desenvolvimento de câncer e

foi relatado a diminuição do fluxo sanguíneo (restenose) em *stents* de pacientes com hipersensibilidade ao metal <sup>27</sup>.

O ferro Fe é um elemento necessário ao bom funcionamento do organismo. Muitas enzimas vitais contem Fe como catalases e lipoxigenases, bem como citocromos e hemoglobina<sup>28</sup>. A deficiência de ferro no organismo tem como consequência direta a anemia e pode ocasionar morte<sup>29</sup>. No entanto altas dosagens de Fe podem ser causadas por implantes deste metal. Altas dosagens de Fe causam danos ao DNA, proteínas, lipídios, geralmente danificam células cardíacas e hepáticas<sup>30-32</sup>. Também foram detectados acúmulos em regiões dos hipocampus de pacientes com Alzheimer e na substancia negra daqueles com mal de Parkinson<sup>33</sup>. A dosagem tóxica de ferro no organismo é de 20 mg por quilograma corporal e a dosagem letal é 60 mg/kg corporal.

Dentre os metais, existe um grupo classificado como vital devido a excelente biocompatibilidade sendo de uso seguro em tempos longos de implantação. Nesse grupo estão o titânio, o tântalo, o nióbio e o zircônio<sup>34-36</sup> como pode ser observado na Figura 1.1.

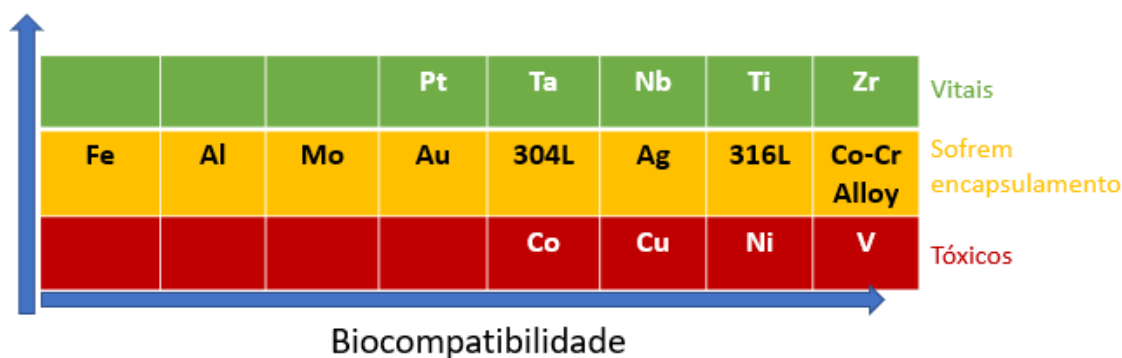


Figura 1. 1: Biocompatibilidade de metais e ligas utilizados frequentemente em implantes.

Excelente resistência à corrosão <sup>37-42</sup>.

O ambiente no interior do corpo humano é fisicamente e quimicamente diferente das condições exteriores. Por conseguinte, um metal que tem um bom desempenho (inerte ou passivo) no ar, pode sofrer uma severa corrosão no corpo, ou um implante que em

determinada região do corpo possua resistência à corrosão, em outra região que tenha pH diferenciado, pode apresentar baixa resistência <sup>43</sup>. As consequências da corrosão metálica, como por exemplo no aço inox, são tipicamente causar alergias e reações tóxicas crônicas no hospedeiro, sendo diagnosticados somente após um período suficientemente longo após a implantação. <sup>43-45</sup>. O corpo humano é um ambiente agressivo para qualquer implante devido a alguns fatores que contribuem para a aceleração da corrosão, tais como: presença de 0,9% de solução salina dotadas de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ ; variações no pH, que se estabelecem por exemplo, na faixa de 3-4 em locais onde há secreções de células inflamatórias causadas por cirurgias ou lesões <sup>43</sup>; flutuações na concentração iônica devido à pressão arterial elevada ou relacionadas a depósitos de íons; pressão parcial de oxigênio interno, que é de cerca de um quarto da pressão do oxigênio atmosférico, diminuindo a capacidade de recuperação da camada de óxido passivante dependente de oxigênio <sup>43</sup>. Idealmente, a escolha do metal a ser implantado no corpo humano deve possuir resistência à corrosão tal que a liberação de íons metálicos seja mínima nas condições mais adversas do corpo e mantida em um nível suficientemente baixo durante um período de utilização longo sob condições fisiológicas normais.

Propriedades mecânicas adequadas <sup>41,42,46-51</sup>.

Propriedades mecânicas adequadas permitem uma melhor distribuição das forças, impedindo ou retardando reações não desejáveis como a reabsorção óssea na região das vizinhanças do implante. Este fenômeno pode provocar a perda da estabilidade mecânica no decorrer dos anos. As propriedades mecânicas de interesse geral para o desenvolvimento de biomateriais incluem o módulo de elasticidade  $E$ , a resistência à tração final (UTS) e a tenacidade <sup>9</sup>. As ligas de Ti, ligas de cobalto e o aço inox são utilizados como material de fabricação de muitos implantes, devido à sua capacidade de suportar cargas relativamente altas e deformar plasticamente antes da falha mecânica. Em relação ao módulo de elasticidade, liga Ti6Al4V, liga de cobalto e aço inox possuem valores altos ( $> 120$  GPa), em comparação com o do tecido ósseo, que é inferior a 30 GPa. O módulo de elasticidade do implante maior que o do osso resulta em má distribuição das cargas entre o osso e o implante. O implante suportará carga maior em relação ao tecido ósseo. A resposta biológica é a atrofia da massa óssea, especialmente em torno do local do implante. A estabilidade do implante é comprometida em caso de atrofia sendo necessária a manutenção do sistema através de cirurgias de revisão. Esse



fenômeno mecânico é chamado de blindagem da tensão ("*stress shielding*"), no entanto este termo é um eufemismo, pois na verdade há uma atenuação e não uma blindagem. Por isso, um dos desafios para a confecção de implantes é combinar junto com as outras propriedades mencionadas a redução do módulo de elasticidade<sup>9</sup>. Comparativamente, as ligas de Ti do tipo  $\beta$  apresentam menores valores de módulo de elasticidade, porém majoritariamente apresentam baixa resistência a fadiga em relação ligas Cr-Co o que pode também acarretar em diminuição da vida útil do implante<sup>34</sup>.

### Resistência ao desgaste<sup>52-54</sup>

O desgaste é um problema inevitável em qualquer implante em articulações, não importa qual o material utilizado<sup>9</sup>. A estabilidade e a durabilidade dos implantes articulados são melhoradas com o aumento da resistência ao desgaste, sendo este um ponto decisivo para o sucesso em implantes articulados. Em articulações o movimento não deve ser suprimido e este deve ocorrer em ocasião de contato entre pelo menos duas partes. Dessa maneira, o movimento relativo de uma parte do implante sobre a outra provoca o desgaste do implante com a consequente formação de partículas (*debris*). A formação do particulado frequentemente aumenta o coeficiente de atrito que aumentará o desgaste. A este fenômeno dá-se o nome de afrouxamento asséptico, que pode ocorrer em qualquer material quando micropartículas são geradas entre os pares que desliza um sobre o outro em implantes articulados<sup>55</sup>. Com a produção de particulados micrométricos o sistema imunológico envia macrófagos que processam as partículas como corpos estranhos (como bactérias por exemplo) e acidificam as vizinhanças<sup>56</sup>. A acidificação pode provocar dor local e aumento do desgaste por efeito erosivo por corrosão<sup>9</sup>.

A figura 1.2 resume os principais mecanismos que podem ocasionar a falha do implante relacionando com as questões levantadas anteriormente.



Figura 1. 2: Árvore representativa da falha do implante com suas principais causas<sup>57</sup>.

A superfície desempenha papel fundamental nas respostas dos implantes aos tecidos biológicos e muitas vezes, quando submetidas a tratamentos superficiais adequados, exibem características diferenciadas em relação ao substrato original. Os tratamentos superficiais são realizados para obter uma superfície que estimule a interação com o tecido ósseo, de modo que, a osseointegração entre o implante e o tecido ósseo seja melhorada, trazendo como consequência uma redução no tempo de recuperação do paciente. Algumas características superficiais que melhoram a interação com o meio biológico e promovem uma melhor osseointegração são: topografia, rugosidade, porosidade, hidrofiliabilidade, cristalinidade e composição química superficial <sup>46,58-64</sup>. Foram observados bioatividade *in vitro* de superfícies de nióbio tratadas pela técnica de sol-gel, <sup>65</sup> e Leitune *et al.*, 2013, observaram a formação de cristais de hidroxiapatita sobre o pentóxido de nióbio imerso em saliva humana. Estudos realizados em fios de Nb tratados com ácido fluorídrico e, posteriormente, implantados no tecido ósseo de ratos

apresentaram biocompatibilidade em tecidos moles e duros, e osteogênese<sup>50</sup> em tecidos duros.

Uma técnica de modificação superficial bastante utilizada em metais como o titânio e suas ligas é a anodização ou oxidação anódica. Dentro do processo de anodização existe uma ramificação denominada oxidação por plasma eletrolítico (OPE), que se distingue dos processos convencionais por produzir luminescências no ânodo denominadas de micro-arcos. Esse tratamento se baseia na combinação dos efeitos da eletrólise convencional com plasmas gerados em torno da amostra imersa em um determinado eletrólito sob uma tensão elétrica<sup>66</sup>. Esse processo eletroquímico é rápido, simples, de baixo custo e tem sido muito utilizado para melhorar a bioatividade em Ti e suas ligas podendo: melhorar a interação com tecido sanguíneo (hidrofilicidade); produzir superfícies porosas e rugosas que auxiliam na adesão celular; melhorar acoplamento mecânico entre o implante e o tecido ósseo e pode também incorporar íons presentes no eletrólito<sup>46,59,67-79</sup>. Idealmente, eletrólitos contendo elementos não tóxicos devem ser selecionados para a realização de tratamentos superficiais. Os elementos Ca e P são abundantes no corpo humano, sendo encontrados em grande percentual nos ossos e dentes<sup>9</sup>. Desta forma, o uso de eletrólitos contendo íons desses elementos tem sido utilizado por vários pesquisadores.

Estudos realizados previamente por nosso grupo de pesquisa com uma variação da técnica de OPE realizadas em duas etapas utilizando alternadamente eletrólitos contendo fósforo e cálcio em substrato de nióbio foram capazes de produzir superfícies com hidróxiapatita – fosfato de cálcio bioativo muito similar ao encontrado no tecido ósseo (hidroxiapatita carbonada)<sup>80,81</sup>. Devido a fragilidade mecânica dos fosfatos de cálcio que limitam sua aplicabilidade, a apatita obtida por OPE em duas etapas apresentou-se como uma ótima maneira de combinar as propriedades mecânicas do metal com a bioatividade da apatita<sup>80</sup>.

## Problematização

Diante dos argumentos expostos no tópico anterior é possível observar alguns pontos importantes para o direcionamento das pesquisas. Em princípio, implantes a base de materiais possivelmente tóxicos e cancerígenos (Al, V, Ni e etc.) devem ser evitados

dando-se preferência a materiais com baixa toxicidade. Sanando-se o problema mais grave podemos selecionar materiais resistentes à corrosão como os metais do grupo vital (Ti, Nb, Ta e Zr). No entanto esses metais apresentam propriedades mecânicas como módulos de elasticidade não satisfatórios para atingir um uso mais amplo como insumo de implantes ortopédicos, principalmente substituído partes no corpo onde os implantes estarão expostos a cargas de maior magnitude.

Os metais do grupo vital podem ser combinados em ligas metálicas. Essas ligas apresentam comportamento mecânico que depende diretamente de sua composição e do controle da microestrutura. Ou seja, existe uma grandiosa faixa dessas ligas com diferentes propriedades. As ligas de Ti com elementos beta estabilizadores, como Ti-Nb, podem ser uma alternativa viável para serem utilizadas como substitutos ao Ti (comportamento tribológico insatisfatório) à liga Ti6Al4V (potencialmente tóxica). Os dois metais associados podem alterar significativamente o módulo de elasticidade da liga formada por eles. Em geral, a associação produz ligas com menores módulos de elasticidade em comparação com titânio e majoritariamente apresentam menores módulos de elasticidade que o nióbio <sup>82</sup>, que é condição desejável para o implante ortopédico.

Apesar de relativamente novas, as ligas de Ti com elementos beta estabilizadores, já possuem como conceito aceito excelente biocompatibilidade e resistência a corrosão. Existe também uma faixa percentuais de quantidade de nióbio nas ligas que majoritariamente são exploradas em pesquisas (até 50 % em peso de Nb) e outra praticamente não explorada (50 – 90% de Nb em peso). No entanto, estudos nas ligas binárias tem demonstrado que quanto maior o percentual de nióbio melhores são as características para a aplicação em materiais implantáveis como hidrofiliabilidade, menor módulo de elasticidade e maior resistência à corrosão<sup>83-85</sup>. Se essas propriedades melhoram com o aumento do percentual de Nb, qual seria a razão para que a faixa de ligas com maiores percentuais Nb serem pouco pesquisadas?

Para a comunidade científica o nióbio é considerado um metal raro e por consequência um metal de alto valor<sup>34,86,87</sup>. Isso diminuiria a viabilidade econômica de possíveis implantes com ligas com maiores concentrações de nióbio. Porém a produção de Nb é alta graças as jazidas brasileiras, que extraem mais de 90% do Nb mundial. No Brasil, Em média são produzidos  $8 \cdot 10^4$  toneladas/ano (2015-2018) de Nb e em 2019 a

produção atingiu  $11 \cdot 10^4$  ton<sup>88</sup>. Comparativamente, a produção mundial de vanádio V foi de  $7,3 \cdot 10^4$  tonelada em 2019<sup>89</sup>. Ou seja, atualmente o Nb apresenta maior disponibilidade para consumo.

Um outro fator muito importante para biomateriais, que tem funções atreladas a longa permanência em tecidos duros do organismo, é a bioatividade. A bioatividade é uma característica da superfície do material podendo determinar a velocidade de recuperação do paciente que recebeu o implante. Materiais bioativos são capazes de formar espontaneamente ao seu redor uma camada de tecido ósseo exibindo uma forte integração implante/osso (osseointegração)<sup>34</sup>. Nos metais como o Ti, Nb, Ta, Zr o que confere sua biocompatibilidade é também a forma como ocorre a interação com as superfícies. O que de fato entra em contato com o organismo não é o metal em si, mas a camada de óxido protetora que não permite o contato direto com o meio. Essa camada atua como uma barreira protetora, capaz de se reconstruir sempre que danificada enquanto estiver em ambiente contendo oxigênio. Manipulando-se a camada de óxido através de tratamentos superficiais é possível torna-la bioativa.

Resultados da literatura tem mostrado que a Oxidação por Plasma Eletrolítico (OPE) é uma técnica que permite formar superfícies com características que favorecem a bioatividade em materiais como por exemplo o Ti, Ta, Nb e suas ligas<sup>76,90-92</sup>. Consequentemente esse tratamento pode ter uso estendido para as ligas Ti-Nb em geral. No entanto, vale ressaltar que essas alterações superficiais, como citado anteriormente, modificam os parâmetros como rugosidade, espessura do óxido, porosidade, composição química superficial e certamente os parâmetros superficiais tribológicos e mecânicos como dureza e módulo de elasticidade.

Dentro das diferentes condições de métodos de implementação da OPE, existe a OPE feita em duas etapas. A OPE em duas etapas desenvolvida por nosso grupo de pesquisa demonstrou de maneira efetiva que a utilização de uma pré-camada (primeira etapa) permite a formação de um recobrimento bem aderido, com formação de apatita, resistentes ao risco (*scratch test*) e com alta hidrofiliabilidade em nióbio e liga contendo nióbio durante o processo de oxidação<sup>80,91</sup>. Durante os processos de OPE no Nb, a maior dificuldade era manter o recobrimento formado aderido à superfície e com a introdução

de uma pré-camada isso foi possível. Como serão realizadas oxidações sobre ligas contendo altos percentuais de Nb, as oxidações foram realizadas com a adição de uma pré-camada. Então, devido ao potencial de uso da OPE em duas ou mais etapas como tratamentos superficiais e à ausência de estudos relacionados com este processo, o trabalho proposto tem como objetivo aplicar a técnica de OPE em até quatro etapas em materiais pouco estudados como as ligas de Ti-xNb ( $x = 50, 80$  e  $90$  % em peso) para aplicação em implantes osseointegráveis, caracterizando as superfícies mecanicamente, morfológicamente e biologicamente.

## 2 Objetivos

### Objetivo geral

- Caracterizar e modificar a superfícies de nióbio e ligas binárias de TiNb (com  $x = 50, 80$  e  $90$  em % de peso) utilizando a técnica de Oxidação por Plasma Eletrolítico, em várias etapas, de forma a criar um recobrimento enriquecido com Ca e P, que apresente características adequadas para melhorar a interação de superfícies de implantes com o tecido ósseo.

### Objetivos secundários

- Verificar a influência da quantidade de Nb nas ligas TiNb na bioatividade, molhabilidade, resistência à corrosão, módulo de elasticidade e dureza das ligas polidas.
- Verificar a possibilidade de realizar oxidação por plasma eletrolítico em até quatro etapas nas ligas TiNb e no Nb alternando-se dois eletrólitos diferentes: um contendo íons de cálcio e outro contendo íons de fósforo;
- Verificar a influência de cada etapa das oxidações verificando morfologia, molhabilidade, cristalinidade da superfície modificada, biocompatibilidade, bioatividade e propriedades mecânicas;
- Verificar a influência da composição das ligas após a oxidação na morfologia, composição química, fases cristalinas, biocompatibilidade, bioatividade, adesão, resistência à corrosão e propriedades mecânicas dos recobrimentos.



### 3 Revisão bibliográfica

#### Biomateriais

Um homem de Washington de aproximadamente 9000 anos atrás chamado de homem de Kennewick, teve sua ossada encontrada. Pelos estudos arqueológicos foi verificado que ele possuía um implante no quadril, que nesse caso se tratava de uma ponta de lança. Mesmo com a ponta de lança, indícios apontam que ele era um homem saudável e que o corpo se adaptou ao implante involuntário. Outro exemplo de material estranho introduzido no corpo é o inserido pelo processo de tatuagem que data de mais de 5000 anos. Em 600 a.C., a civilização maia utilizou-se de conchas marinhas para a confecção de implantes dentários e na França foi encontrado restos mortais de uma pessoa utilizando implante dentário de ferro. De maneira impressionante por conta da ausência de um conhecimento mais aprofundado sobre a biologia foram obtidos casos sucesso na osseointegração, funcionalidade e longevidade dos implantes dentários em épocas pré-históricas<sup>93</sup>.

Antes de 1950 poucos implantes foram bem-sucedidos por causa do baixo conhecimento sobre biocompatibilidade e sobre assepsia. Em 1929 implantes de ouro, prata, chumbo e platina foram estudados em cães por Levert e a platina apresentou-se bem tolerada. Em 1924 Zierold testou vários materiais diferentes em cães e verificou que cobre, zinco, magnésio, níquel alteravam a coloração dos tecidos adjacentes. Já o ouro, prata, chumbo e alumínio foram tolerados, mas apresentaram propriedades mecânicas inadequadas. Em seguida Stelli observou que uma liga de cromo-cobalto apresentou boa tolerância e bom comportamento mecânico. Em 1926 Large observou que o aço inox era bioinerte. Em 1929 uma liga de cromo-cobalto-molibdênio chamada de Vitallium foi utilizada na área odontológica com grande êxito. E em 1947 Cotton, propôs a utilização do titânio<sup>93</sup>.

Durante o período da Primeira Guerra Mundial muitos avanços tecnológicos na área de materiais foram realizados. Após o término do período de guerra muitos materiais de alta durabilidade e inertes fabricados para aprimorar aviões, carros e armamento foram aplicados na área da medicina para solucionar problemas de substituição de partes do

corpo. Dentre os materiais desenvolvidos estão o aço inox e o titânio<sup>93</sup>. Durante a Segunda Guerra iniciou-se uma maior cooperação entre engenheiros e cientistas com médicos e dentistas. E devido à urgência do período, ausência de regulamentação governamental, muitos materiais foram improvisados como implantes. Esse período foi chamado de período do cirurgião herói. Em 1940, o titânio foi utilizado como implante por Bothe, mas somente mais tarde Branemark descobriu a osseointegração do titânio<sup>93</sup>.

Durante a Conferência do Instituto Nacional de Desenvolvimento de Consenso em Saúde em 1982, o biomaterial foi definido como “qualquer substância (excluindo-se drogas) ou uma combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo”<sup>94</sup>. Uma característica essencial de biomateriais é a biocompatibilidade. A biocompatibilidade segundo Willians (1992) “a habilidade de um material atuar como uma resposta apropriada no local implantado”<sup>7</sup>. Para Korkusuz (2004) a biocompatibilidade é “a aceitação de um implante artificial pelos tecidos circundantes e pelo corpo como um inteiro”; posteriormente Willians (2008) redefiniu seu conceito como sendo “a capacidade de um biomaterial para executar a função desejada no que diz respeito a uma terapia médica, sem provocar quaisquer efeitos locais ou sistêmicos indesejáveis no destinatário ou beneficiário, mas gerando uma resposta benéfica celular ou tecidual mais adequada em uma situação específica, otimizando clinicamente a performance dessa terapia”<sup>52</sup>.

Atualmente, em inúmeros casos, como por exemplo em implantes de longa duração é desejável uma interação superior a conseguida pela biocompatibilidade. Um conceito mais complexo é proposto por Wang<sup>95</sup>, é o conceito de bioadaptabilidade. A bioadaptabilidade três conceitos importantes para se projetar um biomaterial, são eles:

1. A adaptação do microambiente da superfície do biomaterial com microambiente do tecido biológico nativo.
2. Adaptação as propriedades mecânicas exigidas pelo tecido biológico nativo;
3. adaptabilidade das propriedades de degradação dos biomateriais em relação a nova formação de tecido.

Comparada à biocompatibilidade, a bioadaptabilidade requer que os biomateriais sejam não apenas seguros para os tecidos defeituosos, mas também funcionais e imitem biologicamente o tecido que irá substituir (complementando componentes, microestruturas e propriedades mecânicas)<sup>95</sup>.

Para implantes ósseos um dos requisitos para se alcançar a bioadaptabilidade é a osseointegração. Para este propósito a superfície deve ser bioativa, isto é, deve induzir o crescimento ósseo e se conectar com os tecidos ósseos através de ligações químicas e biológicas <sup>96</sup>.

O conceito de osseointegração foi primeiramente proposto por Brånemark na década de 50, que observou uma forte ligação entre um implante de Ti e o tecido ósseo, através de uma formação de uma interface óssea entre o implante e o tecido ósseo <sup>97</sup>. A osseointegração conceituada como “um processo pelo qual clinicamente a fixação rígida assintomática de materiais aloplásticos é alcançada e mantida no osso durante o carregamento funcional”<sup>42</sup>. Após o processo de osseointegração a interface osso/implante não deve desenvolver processos inflamatórios e formação de tecidos fibrosos encapsuladores <sup>98</sup>. Se a osseointegração do implante for perdida isso pode resultar na perda da estabilidade mecânica <sup>99</sup>.

Os fatores que influenciam a osseointegração do implante são:

1. Composição química superficial: é crucial para a bioatividade. Alguns grupos funcionais como hidroxilas (OH) em metais como titânio, tântalo e nióbio apresentam uma adaptabilidade ao pH do meio ao qual são imersos. O Ti-OH e o Nb-OH apresentam caráter anfótero (reagem com ácido ou base), ou seja dependendo do pH podem apresentar caráter elétrico positivo ou negativo, sendo neutra eletricamente para Ti-OH no pH (5-6) <sup>100</sup>. Em solução simuladora de fluido corpóreo (pH = 7), a superfície apresenta-se carregada negativamente, o que induz a formação da apatita (fosfato de cálcio similar ao do tecido ósseo)<sup>100,101</sup>. Grupos fosfatos também são grupos polares e podem influenciar positivamente a bioatividade. A bicamada fosfolipídica das células possui a parte mais externa composta pelo grupo fosfato, que é o mineral mais abundante do tecido ósseo.<sup>102,103</sup>

2. Energia de superfície e molhabilidade: a energia de superfície pode ser avaliada através do ângulo de contato entre a superfície e uma gota de fluido <sup>104</sup>. A molhabilidade de uma superfície é influenciada por alguns fatores como temperatura, fluido utilizado, composição química e da topografia da superfície <sup>105,106</sup>. Quanto a molhabilidade, uma superfície pode ser classificada como hidrofílica ou hidrofóbica de acordo com o ângulo de contato com a água. Superfícies hidrofílicas apresentam um ângulo de contato  $< 90^\circ$  e superfícies hidrofóbicas apresentam um valor superior a  $90^\circ$  (ver anexo). No caso de biomateriais a hidrofilicidade é desejável pois esta influencia positivamente a bioatividade. Ou seja, a interação com fluidos corpóreos, proteínas e com células é melhorada favorecendo o processo de osseointegração<sup>40,105,107–109</sup>.
  
3. Porosidade: demonstra influencia no crescimento interno de tecido, vascularização intra-poro, aumento de superfície de contato, estabilidade mecânica, e crescimento celular<sup>110–114</sup>. Cada faixa de tamanho de diâmetro de poro apresenta diferentes respostas biológicas, como por exemplo:
  - 100  $\mu\text{m}$ : auxilia o crescimento intra-poro de tecido mineralizado.
  - 40 a 100  $\mu\text{m}$ : auxilia a formação de osteóides.
  - 5 a 15  $\mu\text{m}$ : formação de tecido fibroso.
  - 2  $\mu\text{m}$ : tecido ósseo observado após remoção de um implante.

De fato, não há um tamanho ideal de poros, pois existem múltiplas interações que o organismo faz com a superfície do implante<sup>112</sup>. O próprio tecido ósseo apresenta uma variação grande de tamanho de poros que vai de nanômetros a milímetros<sup>115</sup>.

4. Topografia da superfície: influencia na orientação de crescimento das células, adesão celular, proliferação e diferenciação de células ósseas responsáveis pela formação de tecido ósseo<sup>116</sup>. A topografia é dependente da orientação da superfície e pela rugosidade. Não há indícios de que a orientação da superfície influencie na osseointegração <sup>117</sup>. No entanto, a rugosidade possui papel importante na resposta biológica<sup>118</sup>. A rugosidade, assim como a porosidade, não apresenta uma mesma faixa ótima de interação com todos os entes biológicos<sup>116,119,120</sup>. No entanto, rugosidades moderadas ( $1 < R_a < 2 \mu\text{m}$ ) são associadas a boas respostas ósseas *in vitro* e *in vivo*

<sup>121,122</sup> e tem sido muito utilizada como faixa de rugosidade para aplicação em implantes osseointegráveis <sup>118</sup>

5. Compatibilidade mecânica: A diminuição relativamente considerável de tensões mecânicas pode causar um processo biológico de perda de massa óssea nas vizinhanças do implante. As tensões mecânicas podem ser “desequilibradas” por diferenças no módulo de elasticidade entre o implante e o osso. O material com módulo de elasticidade menor fica com uma parcela menor da carga mecânica. Normalmente o tecido ósseo é que detém o menor módulo de elasticidade, isso faz que mecanicamente ele seja menos estimulado e como consequência sofre um processo de atrofia na interface de contato<sup>47</sup>. Essa perda de massa óssea provoca a perda da estabilidade mecânica, que compromete a funcionalidade do implante<sup>51</sup>. Existem basicamente duas explicações para a perda de massa óssea por este processo. Um versa sobre uma possível sensibilidade das células precursoras que poderiam ser sensíveis à elasticidade da matriz e isso poderia influenciar no tipo de célula que a célula precursora poderia se tornar. Em outras palavras, as células são sensíveis a elasticidade do substrato (matriz) por um processo de transdução de sinais mecânicos em sinais fisiológicos<sup>95</sup>. No entanto, outro processo aparenta maior influência sobre remodelação (crescimento e decrescimento) óssea, a piezoelectricidade (transdução de sinal mecânico em sinal elétrico) do tecido ósseo<sup>123</sup>. O nióbio, assim como o titânio, possui módulo de elasticidade baixo em relação a outros metais, sendo considerado uma vantagem biomecânica para a prevenção da reabsorção óssea, visto que o tecido ósseo possui o módulo de elasticidade em uma faixa de 10 a 40 GPa <sup>124</sup>. Os valores dos módulos de elasticidade de biomateriais metálicos mais utilizados e do osso cortical estão apresentados na Figura 3.1.

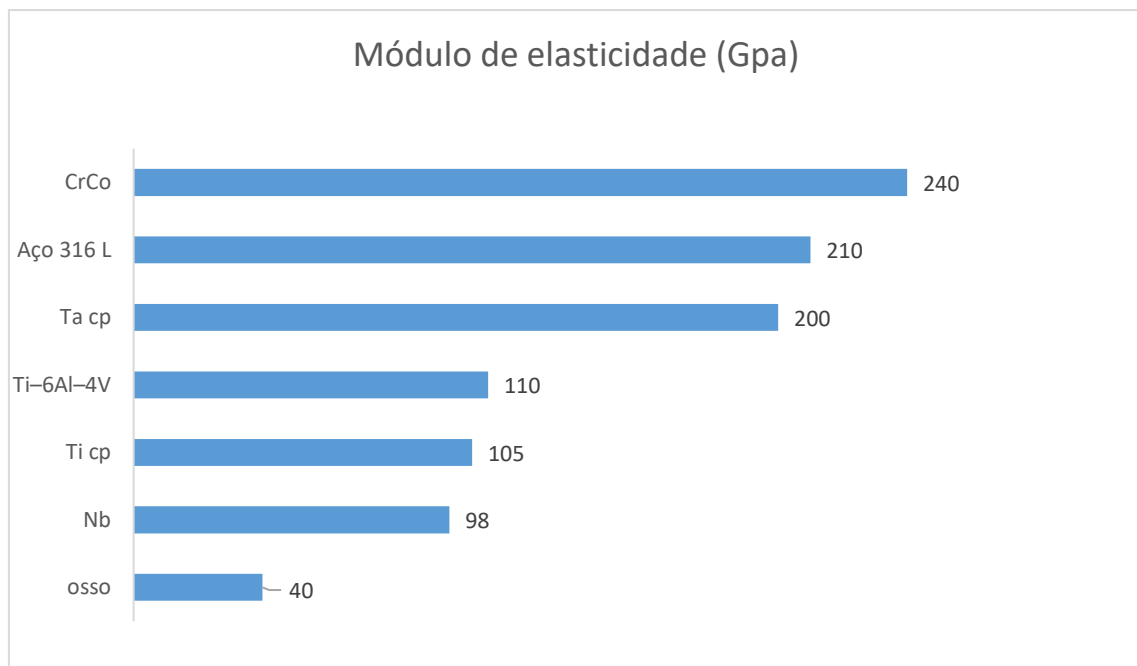


Figura 3. 1: Módulo de elasticidade de metais e ligas metálicas utilizados como biomateriais <sup>57,124-126</sup>

### Titânio

O Ti é um elemento do grupo dos elementos vitais. É um elemento que possui baixa massa específica ( $4,45\text{g/cm}^3$  - aproximadamente 60% do ferro e 50% do nióbio e cobalto e 25% do tântalo) e pode ter sua resistência mecânica aumentada em ligas após processos de deformação. O titânio puro passa por mudança de fase alotrópica quando atinge a temperatura de  $885^\circ\text{C}$  em pressão ambiente. Antes de atingir essa temperatura, sua estrutura cristalina é a hexagonal compacta (fase alfa) e após ultrapassar é a cúbica de corpo centrado (fase beta)<sup>9</sup>. Na tabela 3.1 estão apresentadas algumas propriedades do Ti puro.



Tabela 3. 1: Aplicabilidade do titânio comercialmente puro<sup>127</sup>.

| Vantagens                        | Desvantagens  | Aplicações   |
|----------------------------------|---|--|
| Excelente resistência a corrosão | Não pode ser fortalecido significativamente por tratamento térmico  | Geralmente em onde se necessita de resistência a corrosão sem exigência de cargas de maiores magnitude |
| Excelente biocompatibilidade     | Baixa forjabilidade (capacidade de corpos terem sua forma alterada) | Marca passos<br>Caixas para dispositivos de assistência ventricular.                                   |
| Excelente soldabilidade          | Possui uma estreita faixa de temperatura de forja.                  | Implantes dentários, maxilofaciais e craniofaciais   |
| Baixa massa específica           | Baixa propriedades mecânicas em temperatura ambiente                | Grampos e parafusos para cirurgia espinhal.  |

O Ti não apresenta risco a saúde, sendo considerado um material atóxico e geralmente biologicamente compatível em tecidos moles e duros do corpo humano<sup>50</sup>. A excelente resistência à corrosão e biocompatibilidade juntamente com boas propriedades resistência mecânica fazem com que o Ti e suas ligas sejam amplamente utilizados em aplicações biomédicas<sup>128</sup>. Essa propriedade de resistência a corrosão e biocompatibilidade não advém do metal em si e sim da camada de óxido que o reveste (predominantemente o  $\text{TiO}_2$ ). Essa camada de óxido se forma graças a grande reatividade que o Ti possui com o oxigênio. Meios que contém oxigênio possuirão a capacidade de

reconstruir essa camada quando esta for danificada<sup>129</sup>. Por ser biocompatível, resistente a corrosão, “leve” e mecanicamente resistente para alguns usos no corpo humano, o titânio é largamente utilizado na área de biomateriais.

## Nióbio

O elemento nióbio, possui número atômico 41, massa atômica 92,90638 u, é o segundo elemento do grupo VB da tabela periódica, sendo o vanádio e o tântalo também pertencentes ao mesmo grupo. O nióbio possui a menor massa específica ( $8,570 \text{ g.cm}^{-3}$ ) entre os metais refratários (ponto de fusão =  $2468^\circ\text{C}$ ) sendo seu ponto de ebulição menor somente à seis elementos: C, W, Re, Ta, Os e Mo. Sua coloração é esbranquiçada, porém quando polido apresenta aspecto cinza-prateado. Quando puro é macio, maleável e dúctil devido a sua estrutura cristalina cúbica de corpo centrado, permanecendo com essa estrutura até seu ponto de ebulição. Algumas das propriedades físicas e químicas do Nb podem ser observadas na Tabela 3.2. Quando exposto a longos períodos de tempo em condições ambiente, o nióbio adquire tom azulado<sup>130</sup>. Este metal é envolvido por uma fina camada de óxido (predominantemente o pentóxido de nióbio  $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) que se forma espontaneamente a partir da exposição ao oxigênio. Essa camada confere proteção contra a corrosão em muitos meios ácidos e básicos, porém essa barreira de óxido é ineficaz em altas temperaturas em atmosferas contendo alguns elementos como o oxigênio (acima de  $230^\circ\text{C}$  o nióbio sofre oxidação com o ar)<sup>126</sup>.

Tabela 3. 2 Aplicabilidade do nióbio comercialmente puro<sup>9,126,131,132</sup>

| Vantagens   | Desvantagens   | Aplicações  |
|---|--|---|
| Excelente resistência a corrosão                        | Baixa dureza   | Geralmente utilizado como elemento substancial em ligas de Ti   |
| Excelente biocompatibilidade                            | Sofre forte oxidação em temperaturas acima de 230 C                  | Não há relatos de uso como biomaterial comercial na forma pura. |
| Ductibilidade   | Pouco conhecimento a respeito de funções biológicas em corpo humano. |   |
| Usinabilidade   | Dobro da massa específica do Ti                                      |   |
| Baixo módulo de elasticidade em relação ao Ti e Ti6Al4V |  |   |

Na medicina e na odontologia é usada uma gama de materiais metálicos e não metálicos em instrumentos cirúrgicos, restaurações e implantes cirúrgicos. Na odontologia, uma das condições fundamentais é que resistam a ação corrosiva da saliva de alimentos que podem apresentar pH ácido ou básico <sup>133</sup> e no uso como implante, a resistência a corrosão é um dos fatores primordiais para o aceite biológico, que no Nb, Ti, Ta e Zr se deve ao comportamento dos óxidos que envolvem os metais citados, isolando-os do meio ao qual estão inseridos.

## Ligas de Titânio

Comparado com o Aço inox e ligas de cobalto, as ligas de titânio tem demonstrado melhor biocompatibilidade devido a uma mais alta resistência à corrosão, mutagenicidade insignificante o que indica que o as ligas de Ti são seguras para uso animal e humano<sup>9,134</sup>. Baseado na microestrutura após o processamento as ligas de Ti podem ser classificadas em 4 categoriais: ligas  $\alpha$ -Ti, quase  $\alpha$ ,  $\alpha+\beta$  e  $\beta$ <sup>9,135</sup>

Viabilidade celular do titânio e do nióbio em comparação com outros metais puros:

A viabilidade celular pode ser entendida como a capacidade da célula manter suas funcionalidades ou recuperá-las<sup>136</sup>. Testes de viabilidade celular normalmente medem a partir de uma referência a proliferação de células e toxicidade quando as células entram em contato com certas substancias ou materiais. A Figura 3.3 mostra o valor médio da viabilidade celular de metais puros. Nesse teste são colocados um mesmo volume de um fluido contendo células vivas (espera-se que a distribuição de células seja bem equilibrada) em contato direto com os metais. De uma maneira simplista, o resultado indica a quantidade de células vivas que estavam presentes na superfície após permaneceram durante certo tempo em contato com o metal. O titânio apresentou em média melhor resultado e o nióbio apresentou um resultado um pouco inferior ao titânio e muito parecido ao molibdênio. Para o estudo acima citado foram utilizados fibroblastos L-929 de ratos<sup>137</sup>. É importante salientar que este é um teste *in vitro* com um único tipo de célula e o molibdênio pode apresentar toxicidade *in vivo*, diferentemente do nióbio, titânio e do zircônio, como descrito no capítulo de introdução desta tese.

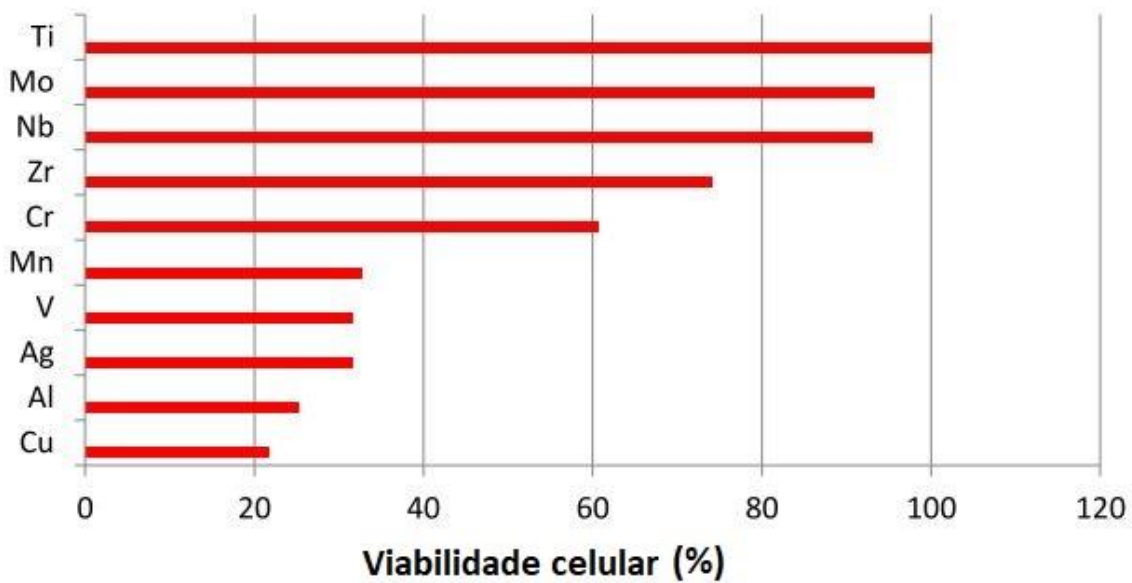


Figura 3. 2: Viabilidade celular do titânio e do nióbio comparado com outros metais em sua forma pura. Figura adaptada da referência<sup>136 137</sup>

#### Ligas $\alpha$ -Ti

As propriedades mecânicas das ligas  $\alpha$ -Ti são sensivelmente afetadas pela composição química, exceto o módulo de elasticidade<sup>9</sup>. Elementos intersticiais como carbono C, oxigênio O e nitrogênio N são estabilizadores fortes das fases  $\alpha$ . Estes elementos podem difundir em solução sólida do Ti (em zonas superficiais) quando o Ti sofre aquecimento em altas temperaturas em atmosferas que contém os elementos acima citados. Além dos elementos estabilizadores intersticiais, existem também os elementos  $\alpha$  estabilizadores substitucionais que são o alumínio Al, gálio Ga, germânio Ge, boro B e terras raras. O Al é um forte  $\alpha$  estabilizador e ao contrário dos outros  $\alpha$  estabilizadores possui maior solubilidade, portanto é um dos elementos mais utilizados em ligas Ti- $\alpha$ .<sup>9</sup>

#### Ligas quase $\alpha$

Ligas quase  $\alpha$  ou super-  $\alpha$ , são ligas que contém quantidades pequenas da fase beta. As ligas com essas proporções de fase apresentam o comportamento mais semelhante às ligas  $\alpha$ -Ti. Até o momento, não há aplicação comercial dessas ligas devido a propriedades mecânicas inferiores em condições ambientes quando comparadas com

ligas  $\alpha+\beta$  e  $\beta$ . Em condições onde as propriedades mecânicas não são críticas o Ti-cp é preferível<sup>9</sup>.

### Ligas $\alpha+\beta$

Dentre as ligas de Ti, as ligas  $\alpha+\beta$  são as mais utilizadas. A liga que representa essa classe de ligas é a Ti-6Al-4V que utiliza cerca de 45% da produção total de Ti. O Ti em vários graus de pureza representa 30% da produção total de titânio e outras ligas utilizam 25%. Em termos de aplicação biomédica, a liga Ti-6Al-4V e o Ti-cp são os mais utilizados<sup>9</sup>. As ligas  $\alpha+\beta$  demonstram alta resistência à fadiga, módulo de elasticidade próximo ao Ti e podem ser melhoradas através de tratamentos térmicos. A liga Ti-6Al-4V é utilizada em componentes de substituição total para quadril e joelho. A liga Ti-6Al-7Nb é utilizada em hastes femorais, placas de fixação de fratura e componentes espinhais<sup>9</sup>.

### Ligas $\beta$

O rápido desenvolvimento de ligas  $\beta$  ocorreu na década de 90 para a aplicação em materiais biomédicos<sup>138-140</sup>. A principal vantagem destas ligas inclui baixo módulo de elasticidade, boa resistência à corrosão e melhor biocompatibilidade quando comparadas com a liga Ti-6Al-4V e outras ligas  $\alpha+\beta$ . As ligas  $\beta$  são livres de vanádio V e utilizam como elementos ligantes normalmente o Nb, Ta, Fe, W que são elementos considerados não tóxicos<sup>9</sup>.

As ligas do tipo  $\beta$  são frequentemente conhecidas como segunda geração de ligas de Ti na área de biomateriais. Uma das razões principais para o seu desenvolvimento é a capacidade de formar ligas com maior compatibilidade mecânica (módulo de elasticidade E menor) com o tecido ósseo<sup>9</sup>. Além do E geralmente mais adequado essas ligas também apresentam como vantagem alta temperabilidade (capacidade de alterar a dureza através de tratamentos térmico), forjabilidade e conformabilidade a frio<sup>127</sup>. Quando envelhecido, possui maior tenacidade à fratura e resistência à tração em comparação com ligas  $\alpha+\beta$ . Ligas  $\beta$  são metaestáveis, não só porque quando aquecidas podem parcialmente se transformar em fase  $\alpha$ , mas porque sob compressão este fenômeno também pode ocorrer

<sup>127</sup>. Uma desvantagem das ligas  $\beta$  é sua resistência a fadiga, que é menor quando comparada com a liga Ti-6Al-4V<sup>9</sup>.

Questionamentos atuais sobre as ligas de titânio:

Em geral, as ligas de titânio podem produzir reações adversas a partir do desgaste por atrito das próteses e apresentam baixa resistência ao desgaste em aplicações em articulações, quando comparado com ligas de cobalto <sup>43</sup>.

As ligas  $\alpha+\beta$  apresentam alta resistência à tração e resistência à fadiga, no entanto apresentam baixa propriedades relacionadas à flexibilidade, devido a estrutura hexagonal compacta da fase  $\alpha$ . Essa é uma das principais causas de falhas em implantes pois provoca fraturas prematuras em pontos de concentração de tensões<sup>9</sup>. Apesar das ligas beta possuírem melhor capacidade de deformação, a resistência à fadiga é menor quando comparadas com ligas  $\alpha+\beta$  <sup>9</sup>.

Na tentativa de resolver o problema de flexibilidade das ligas  $\alpha+\beta$ , a liga  $\beta$  Ti-Mo-Zr-Fe (TMZF) foi desenvolvida e aplicada como material base da haste em cirurgias de substituição total de quadril. No entanto, um problema surgiu. Foi detectado no orifício um pó fino em meio ao fluido corpóreo que atuava como abrasivo <sup>9</sup>. Esse abrasivo foi gerado pela baixa dureza da liga. Em resumo, uma liga de titânio que possua boas propriedades de flexibilidade, excelente biocompatibilidade e resistência ao desgaste ainda não foi consolidada como implante. Uma maneira de tentar resolver essas questões é introduzir elementos refratários como Nb, Ta e W ou/e realizar tratamentos superficiais sobre as ligas de Ti<sup>9</sup>.

## Ligas Ti-xNb

Recentemente, para evitar o uso de metais potencialmente tóxicos, há esforços no sentido de confeccionar ligas que combinem metais como Ti e Nb. O Nb é um  $\beta$ -estabilizador da fase cúbica de corpo centrado do Ti. As ligas do tipo  $\beta$  representam a segunda geração de ligas e muitas visam um uso específico para uso em implantes ósseos. Diferentemente das ligas de primeira geração (como por exemplo Ti6Al4V) que tiveram seu desenvolvimento para uso estrutural geral<sup>9</sup>. As ligas do tipo beta são bastante conhecidas pelo módulo de elasticidade mais próximo ao valor encontrado para osso. Acima de um pouco mais de 50% (em peso) de Nb presente em ligas binárias de Ti-Nb tem-se uma liga de Ti-  $\beta$  em temperatura ambiente, como sugere o diagrama de fase na figura 3.3.

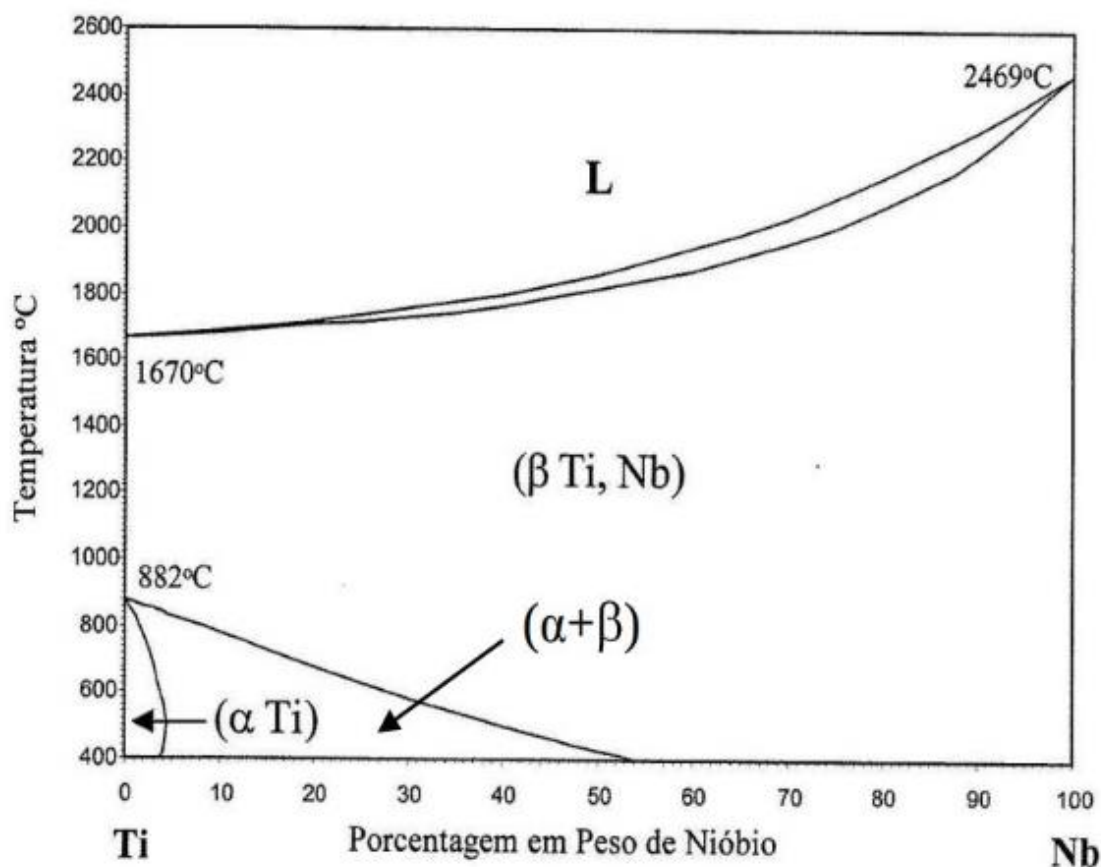


Figura 3. 3: Diagrama de fase da liga binária Ti-xNb (x = porcentagem de nióbio em peso). Figura adaptada da referência<sup>141</sup>.



A maioria das ligas beta desenvolvidas é baseada em tentativa e erro <sup>34</sup>. Devido à complexidade dos cálculos, ligas binárias levam vantagem quanto a predição teórica de propriedades. Em relação ao módulo de elasticidade, existe uma curva teórica da liga Ti-xNb em comparação com outra ligas binárias com elementos  $\beta$ -estabilizadores (Ti-Ta, Ti-Mo, Ti-W) proposta por Ikehata e co-autores<sup>82</sup>. As curvas das ligas na figura 3.4 mostram uma vantagem teórica para a liga Ti-xNb em relação a outras por possuir menores módulos de elasticidade.

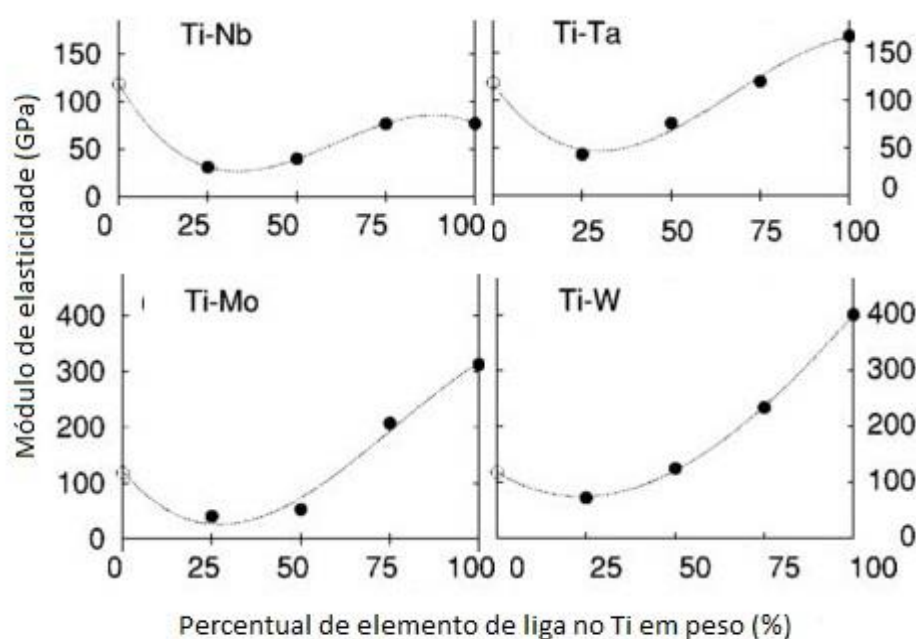


Figura 3. 4: Módulo de elasticidade em função da porcentagem de elemento  $\beta$ -estabilizador (Ti-X, onde X = % peso de Nb, Ta, Mo ou W ) usando o método de Voigt-Reuss-Hill para um único cristal. Adaptado da referência<sup>82</sup>.

Muitas ligas de Ti tipo- $\beta$  (principalmente ternárias e quaternárias) têm sido pesquisadas e não satisfazem todas as condições necessárias para seu uso mais abrangente como implante. Questões como resistência ao desgaste e baixa resistência à deformação ainda são um empecilho para uma aplicação mais ampla dessas ligas<sup>9</sup>. Agora, em relação às ligas de Ti-xNb (com  $x > 50\%$ ) existem poucos estudos.

De acordo com Gepreel e Niinomi existe uma fundamentação econômica como empecilho. Para a comunidade internacional o nióbio é um metal raro e caro, principalmente em comparação ao titânio (10º elemento mais abundante na crosta terrestre). Como consequência, existe uma preocupação em diminuir a quantidade de adição do nióbio e tântalo em ligas ou usar elementos como estanho Sn, ferro Fe, molibdênio Mo e etc<sup>34</sup>. No entanto, nos últimos anos devido à extração brasileira, o Nb não pode ser considerado um metal escasso para consumo.

A liga Ti-50Nb é uma liga composta por 50 % em peso de titânio e 50 % em nióbio. A Tabela 3.3 demonstra que a liga produzida Ti-50Nb apresenta dureza superior e módulo de elasticidade mais próximo ao valor do osso, quando comparado com o titânio comercialmente puro e à liga Ti6AlV<sup>142</sup>. Em um estudo de molhabilidade, adesão celular, viabilidade e proliferação celular comparativo entre Ti-50Nb, Ti e TiZr observou-se hidrofobicidade levemente menor para a Ti-50Nb e respostas celulares significativamente menores para a liga Ti-50Nb<sup>143</sup>. Em relação a tratamentos superficiais a liga Ti-50Nb apresentou formação mais uniforme e bem distribuída de nanotubos, com uma relação de aumento de formação de hidroxiapatita com o aumento da quantidade de nióbio na liga. As ligas comparadas foram Ti-50Nb, Ti30Nb e Ti10Nb<sup>144</sup>.

Tabela 3. 3: Dureza Vickers obtida pela técnica de microdureza, módulo de elasticidade e massa específica teórica adaptada da referência<sup>145</sup>.

|           | Dureza<br>(HV) | Módulo de elasticidade<br>(GPa) | Massa específica teórica<br>(g/cm <sup>3</sup> ) |
|-----------|----------------|---------------------------------|--|
| Ti-50Nb   | 400 ± 20       | ~ 80                            | 5.90   |
| Ti-45Nb   | 370 ± 10       | ~80                             | 5,73   |
| Ti-cp     | 175 ± 5        | ~105                            | 4,51   |
| Ti-6Al-4V | 340 ± 10       | ~110                            | 4.42   |

A corrosão de ligas de Ti é influenciada pelos  $\beta$  estabilizadores, os quais apresentam um filme passivo com grande resistência à corrosão. A passivação é resultado da influência favorável dos elementos de liga (Nb, Zr, Ta). Estes participam com os seus óxidos para a formação do filme passivo/protetivo. O filme formado com óxido de diferentes elementos possui baixas taxas de corrosão e conseqüentemente menor liberação de íons. Essa característica implica em uma toxicidade muito baixa <sup>146</sup>. As ligas Ti-Nb possuem maior resistência à corrosão em comparação com a liga Ti6Al4V e ao Ti-cp <sup>146</sup>, pois a presença do Nb melhora sua passivação pela diminuição da concentração de vacâncias de ânions no filme TiO<sub>2</sub> <sup>146</sup>. Quando analisado a corrosão do Ti-50Nb em solução salina 0,9% apresentou similares a ligas Ti-30Ta, Ti-40Ta e Ti-40Nb<sup>147</sup>. Uma resistência a corrosão superior implica em uma biocompatibilidade também superior. Dessa forma as ligas Ti-xNb torna-se muito interessantes para aplicação em biomateriais.

Como descrito na introdução, os implantes devem ser projetados para ter além da biocompatibilidade a bioadaptabilidade. A bioadaptabilidade implica em adaptação do microambiente da superfície do biomaterial com microambiente do tecido biológico nativo<sup>95</sup>. Como por exemplo deve haver, por parte do implante, a adaptação das

propriedades mecânicas exigidas pelo tecido biológico nativo conjuntamente com as propriedades de degradação dos biomateriais em relação a nova formação de tecidos<sup>95</sup>. Esses quesitos podem ser alcançados ou aproximados através de tratamentos de modificação superficial, como por exemplo a oxidação por plasma eletrolítico.

### Plasma eletrolítico em etapas

A oxidação por plasma eletrolítico OPE permite obter recobrimentos porosos, cristalinos, com boa adesão ao substrato, alta dureza e com espessuras de até 100  $\mu\text{m}$  <sup>148</sup>. A técnica de oxidação por plasma eletrolítico, como os parâmetros devidamente ajustados, vem sendo utilizada com sucesso para a modificação da superfície do Ti para aplicações em biomateriais.

A configuração de execução mais simples da OPE consiste da aplicação de uma diferença de potencial entre dois eletrodos imersos em um eletrólito, onde a amostra é posicionada como anodo (polo positivo). Quanto ao Plasma Eletrolítico em Duas Etapas consiste em alterações nos parâmetros experimentais durante o processo de oxidação. Os parâmetros experimentais que podem ser alterados são a temperatura do eletrólito, natureza e concentração do eletrólito, estímulo elétrico, tempo, velocidade de agitação do eletrólito, distância entre os eletrodos<sup>149–151</sup>. Os parâmetros alterados para a o Plasma Eletrolítico em Duas Etapas geralmente são elétricos e/ou natureza dos eletrólitos<sup>80,91,152,153</sup>.

A OPE em Duas Etapas desenvolvida por nosso grupo de pesquisa consiste em criar uma pré-camada não porosa utilizando um eletrólito contendo ácido fosfórico e depois reoxidá-la utilizando outro eletrólito por OPE. Como eram observados deslocamentos recorrentes em OPE realizadas sobre o Nb, uma pré-camada foi adicionada, o que possibilitou a formação de recobrimentos porosos contendo apatita (fosfato de cálcio bioativo), hidrofílicos, resistentes ao risco (em ensaios do tipo *nanoscratch test*) e com módulo de elasticidade inferior ao substrato metálico<sup>80,91</sup>.

Como a apatita é um fosfato de cálcio que apresenta alta bioatividade frequentemente é utilizada em recobrimentos de materiais para implantes ósseos. No entanto, suas baixas propriedades mecânicas e baixa aderência limitam sua aplicação. Na OPE em Duas Etapas há o crescimento de apatita dentro dos poros do recobrimento do óxido formado e como essa formação porosa apresenta boa adesão e melhores propriedades mecânicas a apatita acaba sendo protegida mecanicamente pelo óxido poroso<sup>80,91</sup>. Ou seja, essa é uma boa combinação para utilização em implantes osseointegráveis.

A importância da pré-camada pode ser verificada observando-se a figura 3.5. A esquerda tem-se a imagem da superfície oxidada por OPE em liga Ti-25Nb-25Ta sem a pré-camada, à direita tem-se a oxidação realizada com a inserção de uma pré-camada, e em baixo de cada figura tem-se a correspondente curva de densidade de corrente. A amostra que foi oxidada sem a pré-camada apresentou inúmeros deslocamentos durante a oxidação e pela imagem é possível observar um pedaço do óxido remanescente no centro da micrografia. Adicionalmente a curva de densidade de corrente apresentou vários picos menores que são sinais de deslocamentos. Já a superfície formada em duas etapas não deslocou e formou hidroxiapatita<sup>91</sup>. O mecanismo pode ser explicado da seguinte maneira: a pré-camada formada atua como uma resistência elétrica, ou seja, é possível controlar melhor a passagem de corrente com a inserção de uma pré-camada evitando os picos súbitos de corrente que destroem o recobrimento formado.

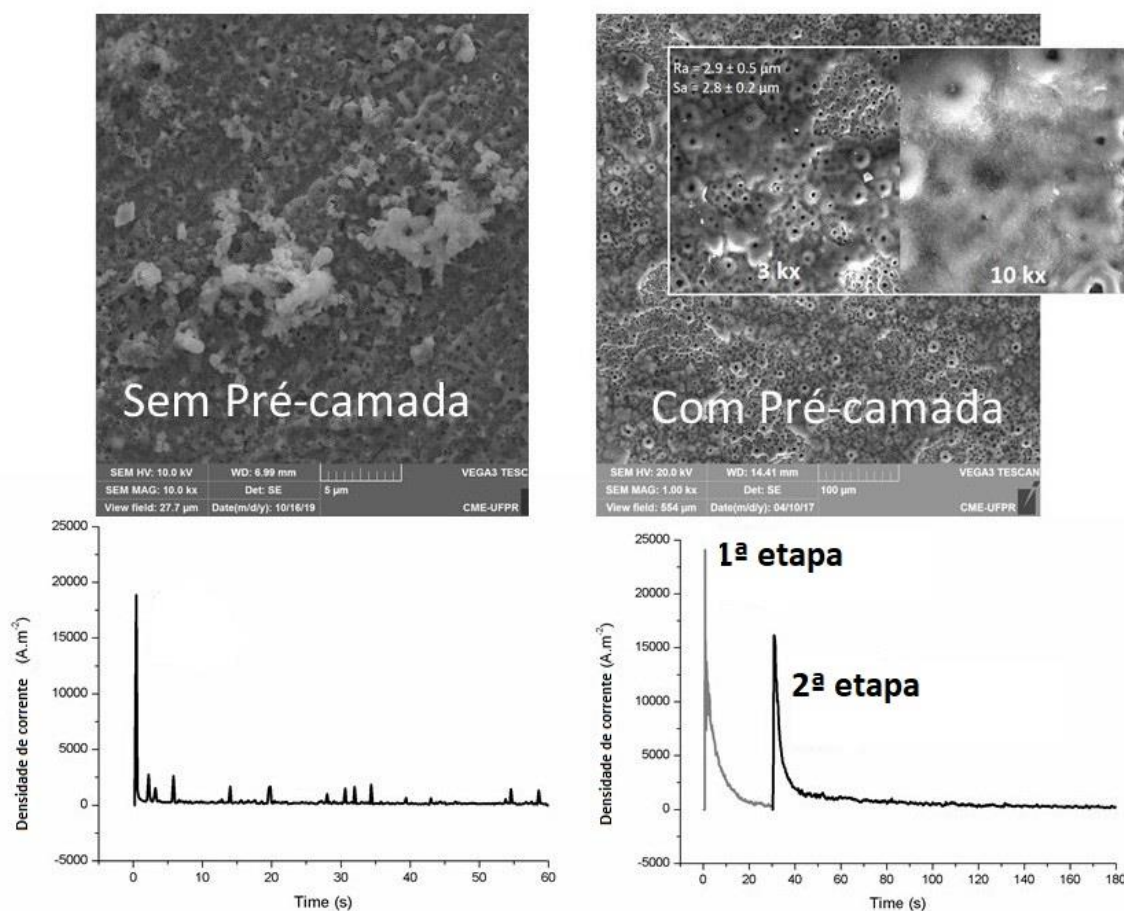


Figura 3. 5 Oxidação por Plasma eletrolítico sobre a liga Ti-25Nb-25Ta realizado sem pré-camada (etapa única) e com pré-camada (Em Duas Etapas). A esquerda está posicionada a imagem obtida por microscopia eletrônica e logo abaixo está a curva de densidade de corrente da amostra sem pré-camada. A direita está apresentada imagem obtida por MEV da amostra com pré-camada e sua respectiva curva de densidade de corrente. Figura adaptada da referência<sup>91</sup>.

Como exposto anteriormente em ligas binárias de Ti-xNb, em estudos realizados em ligas com  $x \leq 50$ , indicaram que características para a aplicação em implantes osseointegráveis melhoram com o aumento de Nb na liga. No entanto, praticamente não há estudos com quantidades maiores que 50% em peso de Nb. Por isso um dos objetivos deste trabalho foi caracterizar ligas com altos percentuais de Nb (Ti-xNb com  $x = 50, 80$  e  $90\%$ ). Como também mencionado, a Oxidação por Plasma Eletrolítico é uma excelente técnica de modificação superficial que pode conferir ao Ti, Nb e suas ligas propriedades mais adequadas para a aplicação em implantes ósseos. No entanto, como as ligas foram produzidas com altos percentuais em peso de Nb, foi introduzido uma pré-camada para

evitar eventuais deslocamentos, ou seja, o método escolhido para esta tese foi a OPE em etapas para a aplicação em implantes osseointegráveis. Foram avaliados a composição química, porosidade, rugosidade, molhabilidade, viabilidade celular e propriedades mecânicas do recobrimento anódico e das ligas de Ti-xNb.

#### **4 Metodologia**

##### **Fabricação da ligas Ti-xNb (x= 50%, 80% e 90%)**

Os materiais utilizados para a confecção das ligas foram o titânio comercialmente puro, grau 2, com pureza de 99,7%, proveniente da TiBrasil e o nióbio com grau de pureza de 99,8%, fornecido pela Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração. Os materiais tiveram suas massas medidas com o auxílio de uma balança analítica para a obtenção das ligas com 50%, 80% e 90% em peso de Nb. As ligas Ti-Nb foram produzidas na UNESP/SP, sob a supervisão do professor Dr. Roberto Grandini. A fusão foi realizada no Laboratório de Anelasticidade e Biomateriais (LABUNESP/Bauru), em um forno arco-voltaico, com cadinho de cobre refrigerado a água, eletrodo não-consumível de tungstênio e atmosfera controlada de argônio. Os materiais precursores, Ti e Nb, foram fundidos por arco-voltaico 5 vezes para garantir uma boa homogeneidade com rotações de 90° na posição do lingote. Para eliminar impurezas da atmosfera o procedimento de fusão foi em um vácuo de  $10^{-2}$  mBar. Após a fusão foi feito um tratamento térmico de homogeneização para aliviar as tensões internas residuais da fusão. As amostras foram tratadas termicamente em vácuo ultra alto durante 24 horas num patamar de 1000 °C.

##### **Preparo da superfície das amostras**

Os lingotes de Ti-xNb (x= 50%, 80% e 90%) obtidos foram cortados, por eletro erosão, sendo obtidos discos com aproximadamente 2 mm de espessura e diâmetro de 15 mm. As amostras de Nb foram obtidas de corte de uma chapa de nióbio de 2 mm de espessura, fornecida pela Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração (CBMM) com grau de pureza de 98,8%, temperatura de fusão 2600 °C e massa específica de 8,5g/cm<sup>3</sup>. As dimensões das amostras foram de (15x10) mm<sup>2</sup> por 2 mm de espessura.

Todas as amostras passaram por um processo de uniformização da superfície que consistiu no lixamento de toda a área das amostras, com lixas 220, 320, 360, 600, 1000, 1200 e 2000 (unidades de granulometria) e algumas polidas para análise de propriedades mecânicas com sílica coloidal diluída em peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) com concentração de 85%. Em seguida realizou-se a limpeza das amostras, que consistiu em mergulhá-las em propanona, etanol e água destilada, durante 15 minutos em cada solução, em banho de ultrassom. Depois essas amostras foram colocadas em uma estufa, onde permaneceram em temperatura constante de 40 °C por 24 h para secagem.

#### Condições para a oxidação por plasma eletrolítico

Para a anodização das amostras, em modo potencioestático e galvanostático, utilizou-se uma célula eletrolítica para a contenção do eletrólito, agitador magnético para realização da agitação do eletrólito, fonte de tensão Chroma 6000 ligada a um computador com o software Chroma 62000P Soft Panel para aquisição da corrente em função do tempo durante o processo experimental. Uma placa de nióbio foi utilizada como contra-eletrodo (cátodo). As amostras foram presas na parede externa da célula eletrolítica (figura 4.1), com o auxílio de um parafuso. Nesta parede foi feito um orifício que expõe a superfície da amostra ao eletrólito. Neste orifício coloca-se um anel de vedação “O-ring” de Viton (polímero que suporta condições agressivas de pH e de temperatura), para evitar que a solução (eletrólito) esorra por frestas. Assim, uma mesma área é exposta ao processo de oxidação, independentemente do tamanho da amostra. A figura 4.1 mostra detalhadamente o arranjo experimental utilizado. O recobrimento é formado somente na região exposta à solução. A área exposta foi de  $3,85 \times 10^{-5} \text{ m}^2$ .



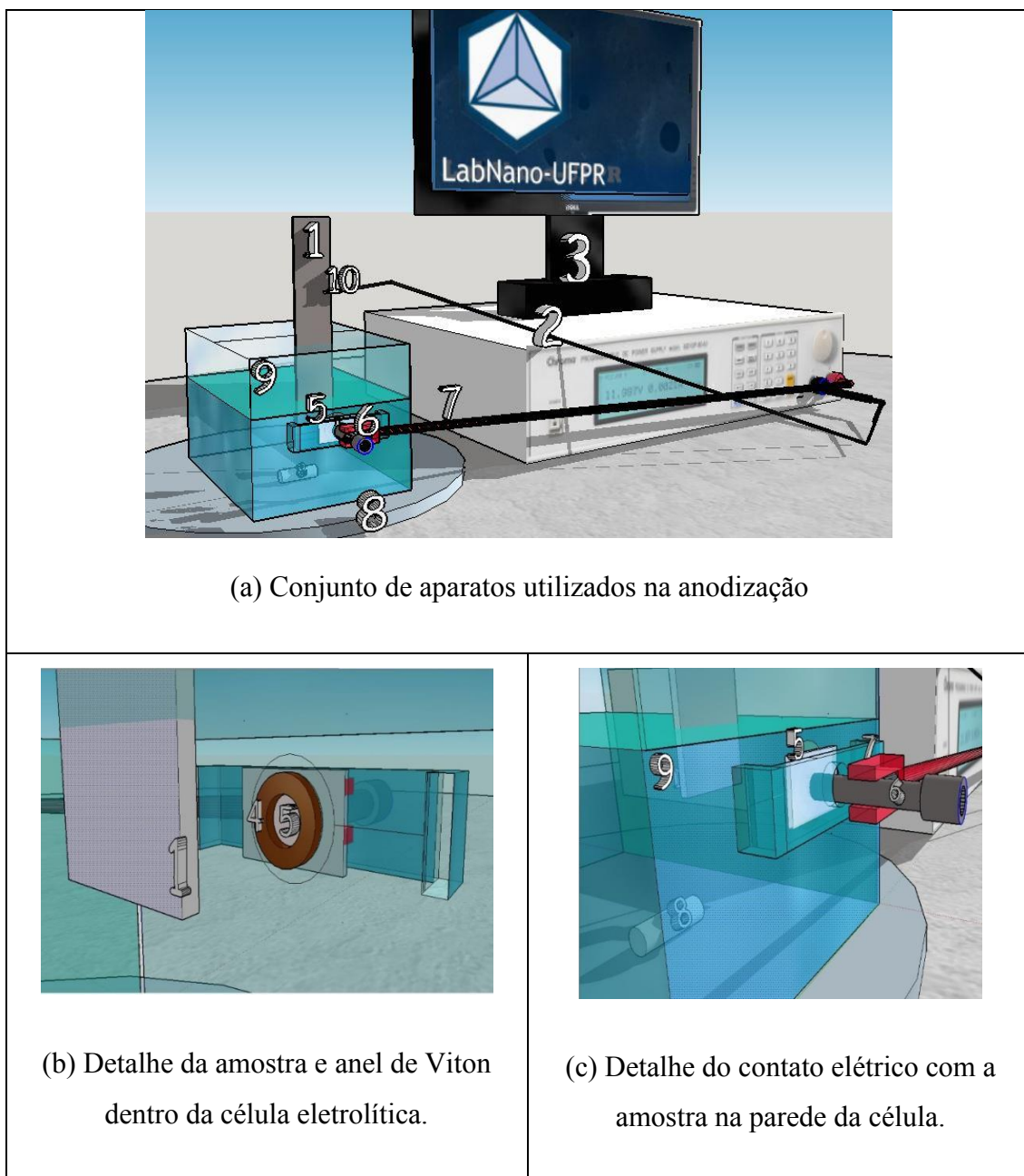


Figura 4. 1: Detalhes dos aparatos utilizados no experimento de anodização. 1 = contra-eletrodo de nióbio; 2 = fonte de tensão; 3 = computador; 4 = O-ring; 5 = amostra de nióbio; 6 = parafuso; 7 = polo positivo; 8 = conjunto de agitação magnética; 9 = célula eletrolítica; 10 = polo negativo. Figura adaptada da referência<sup>154</sup>.

Com o objetivo de obter recobrimentos de óxido enriquecidos com Ca + P utilizaram-se os seguintes eletrólitos: acetato de cálcio monohidratado 99% PA, ácido fosfórico 85% PA, respectivamente. Como há poucas referências bibliográficas sobre anodização na condição de oxidação por plasma eletrolítico (OPE) em nióbio e em ligas

de Ti-xNb (com  $x > 50\%$ ), os parâmetros experimentais obtidos em estudos anteriores sobre OPE em nióbio serviram como base para esse trabalho <sup>92</sup>.

A metodologia experimental está dividida em quatro partes, lembrado que o objetivo foi obter camadas com boa adesão ao substrato, enriquecidas com os elementos do eletrólito utilizado na OPE. Os eletrólitos utilizados foram dois:

- 1 Para a obtenção de recobrimentos anódicos enriquecidos com cálcio utilizou-se a solução de acetato de cálcio monohidratado  $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  na concentração de  $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ . Essa solução será referenciada a partir de agora como **eletrólito Ca**.
- 2 Para a obtenção de recobrimentos anódicos enriquecidos com fósforo utilizou-se ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) na concentração de  $1 \text{ mol.L}^{-1}$  com a adição de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$  35%) na proporção de 80% de ácido fosfórico e 20% de peróxido de hidrogênio em volume, respectivamente. Foi necessária a adição do peróxido de hidrogênio no eletrólito pois a anodização só com o ácido fosfórico nas condições que resultaram bons resultados para o titânio não se aplicaram para o nióbio. Essa solução será referenciada a partir de agora como **eletrólito P**.

Todas as amostras seguiram o mesmo parâmetro de oxidação. A OPE foi realizada em até quatro etapas:

- 1<sup>a</sup> – Com o **eletrólito P**, modo potencioestático na tensão de 300 V e tempo de 30 segundos.
- 2<sup>a</sup> – Com o **eletrólito Ca**, modo galvanostático com corrente de 0,1 A e tempo de 60 segundos.
- 3<sup>a</sup> – Com o **eletrólito P**, modo galvanostático com corrente de 0,1 A e tempo de 60 segundos.
- 4<sup>a</sup> – Com o **eletrólito Ca**, modo galvanostático com corrente de 0,1 A e tempo de 60 segundos.

Obs.: a densidade de corrente para 0,1 A na área exposta ao eletrólito é de  $2598,45 \text{ A.m}^{-2}$

Para cada liga e para o nióbio cinco superfícies foram analisadas. Foram quatro etapas + o substrato de cada amostra. A primeira camada oxidada com eletrólito P, tensão de 300V e tempo de 30 s foi escolhida com base em resultado de trabalhos prévios em nióbio<sup>92</sup>. A alteração para galvanostático após a primeira oxidação é devido ao fato de que não se conhece o potencial elétrico de rompimento da barreira dielétrica nas oxidações posteriores (condição necessária para oxidação). Dessa maneira o sistema funciona da seguinte forma: para que a corrente fornecida se mantenha constante, a tensão sobe à medida que a barreira de óxido aumenta sua resistência elétrica. Assim é possível executar a oxidação em etapas de uma maneira facilitada. Na Figura 4.2 estão os nomes atribuídos as amostras. O número de 1-4 é referente à etapa da oxidação. P e Ca estão relacionados ao eletrólito utilizado. Os números 90, 80 e 50 representam a porcentagem de nióbio na amostra com o titânio suprimido do nome. As condições da primeira etapa Nb<sub>x</sub>-1 (x = 90, 80, 50) não foram completamente caracterizadas pois a primeira etapa, foi projetada somente para servir de “base” para as outras oxidações. Para facilitar o entendimento das condições descritas pode-se formar como exemplo a seguinte condição:

- Nb90-4: A liga utilizada foi Nb 90 e sua superfície foi oxidada quatro vezes (primeiro com eletrólito P durante 30 s, em seguida trocou-se o eletrólito para o Ca e a superfície foi reoxidada; na terceira etapa a superfície foi reoxidada novamente com eletrólito P e na quarta etapa a superfície foi reoxidada com eletrólito Ca.



Figura 4. 2: Nomenclatura atribuída às amostras. O número de 1-4 é referente à etapa da oxidação. P e Ca estão relacionados ao eletrólito utilizado. Os números, 90, 80 e 50 representam a porcentagem de nióbio na amostra.

#### Caracterização das amostras

As amostras foram submetidas ao teste de difração de raios-X para a detecção das fases cristalinas. A análise foi executada na faixa de ângulos de  $15^\circ \leq \theta \leq 90^\circ$  utilizando, geometria de Bragg-Brentano radiação Cu-K $\alpha$  com um monocromador acoplado ao equipamento Shimadzu 7000. Para a identificação dos picos foi utilizada uma base de dados chamada PDF2. Foram utilizados os seguintes padrões para o Nb (000-02-1108), para a fase  $\beta$  do titânio (44-1288), para o Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> com estrutura cristalina hexagonal (000-07-0061), ortorrômbica (27-1003) e monoclinico (27-1312) e para o dióxido de titânio correspondente ao anatase (2-406).

A composição química foi avaliada utilizando a técnica de EDS (*energy dispersive x-ray spectroscopy*) utilizando a energia de 15 keV e ampliação de 1k. O equipamento utilizado foi o TESCAN VEGA3 LMU.

Para revelar os grãos presentes na microestrutura das ligas Ti-xNb foi realizada análise metalográfica. A superfície das ligas foram banhadas com solução composta por HF, HCl e HNO<sub>3</sub> diluídos em água deionizada (nas proporções da referência<sup>83</sup>) até que a microestrutura fosse revelada, e as imagens da superfície foram obtidas por microscopia ótica. Os contornos de grão foram realçados utilizando-se de um software de imagem.

As propriedades mecânicas foram medidas através de um nanoindentador ZHN (Zwick-Roell). Foram feitas 49 indentações com uma ponta Berkovich em cada amostra. Foi utilizado o modo QCSM (*Quasi Continuous Stiffness Measurement*) e a força máxima aplicada em cada indentação foi de 500mN.

As medidas de molhabilidade foram feitas utilizando um goniômetro que depositava um volume de água de 1 µL sobre a superfície. A gota de água permanecia em contato com a superfície durante 40 s e depois eram medidos os ângulos de contato da gota com a superfície. As medidas foram realizadas no Athlone Institute of Technology-Irlanda.

As características superficiais de rugosidade das amostras analisadas foram determinadas utilizando microscópio confocal a laser da marca Olympus, modelo LEXT OLS 4000, e para obtenção das imagens e, conseqüentemente, dos parâmetros de rugosidade foi utilizado o software OLS 4000. Parâmetros de rugosidade 3D e 2D (dimensões) de cada amostra, designados pelas letras S e R respectivamente, foram obtidos a partir da média de três regiões distintas de análise. Dentre todos os parâmetros de rugosidade obtidos, aqui neste trabalho foram escolhidos o Sa e Ra, que são muito empregados para o controle geral de qualidade de uma determinada superfície. Ambos parâmetros, Sa e Ra, são definidos como o desvio absoluto médio de irregularidades de superfície a partir de uma linha média ao longo de um comprimento de amostragem<sup>155</sup>.

Os testes de corrosão (polarização potenciodinâmica) foram realizados com o auxílio de um potenciostato Ivium Technologies. Os testes de corrosão foram realizados em uma célula eletrolítica acrílica semelhante a utilizada no processo de oxidação por

plasma eletrolítico. A configuração experimental utilizada foi a convencional, ou seja, três eletrodos, um de platina, a amostra e o de calomel saturado. Como eletrólito foi utilizado a solução conhecida como PBS (*phosphate buffer solution*) no volume de 150 mL, na temperatura de 25° C. A faixa de diferença de potencial foi no intervalo de -1,5 V a 2,5 V no tempo de 1 h. Após fornecer a densidade e a área exposta da amostra ao software do equipamento foi feita a análise da curva de Tafel e foi gerada uma tabela com a corrente de corrosão, densidade de corrente de corrosão, resistência à polarização e as constantes de Tafel. Com esses dados foram realizados os cálculos das taxas de corrosão utilizando o método e as equações presentes no anexo desta tese.

A viabilidade das linhas celulares de osteoblastos MC3T3 foi analisada pelo ensaio MTT. Os osteoblastos foram semeados a uma concentração de 10.000 células / poço em placas de cultura de 48 poços em três repetições e incubadas. Após o contato com células osseas, as amostras foram colocadas em um outro meio contendo 20 µl de uma solução de MTT (brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio) (Sigma-Aldrich®) (5 mg/mL ) e foram incubadas por 3 h a 37 °C. Finalmente, a viabilidade celular foi quantificada pela detecção de absorbância (490-690 nm) em um leitor de microplacas (BioTek Synergy HT). O processo dos fundamentos do teste MTT estão descritos no anexo desta tese. As medidas foram realizadas no *Athlone Institute of Technology*-Irlanda.

Para melhor comparação das condições obtidas neste trabalho os resultados a seguir foram separados em duas partes. O capítulo 5 faz comparações entre as performances das três ligas, do nióbio e do titânio. Já o capítulo 6 descreve e compara as superfícies tratadas pela oxidação por plasma eletrolítico em até quatro etapas feitas sobre as ligas e sobre o nióbio.

## **5 Composição química, fases cristalinas, microestrutura, propriedades mecânicas, viabilidade celular e resistência à corrosão das ligas, e dos metais Nb e Ti sem tratamento superficial.**

A fig. 5.1 mostra a análise de EDS em modo mapeamento feito sobre uma determinada área escolhida aleatoriamente sobre as diferentes ligas. Pelas imagens é possível observar que o processo de fabricação das ligas resultou em distribuições uniformes dos elementos componentes (nióbio e titânio). A tabela 5.1 é porcentagem da

liga em peso também obtida através da técnica de EDS. Foram analisadas várias áreas diferentes sobre as superfícies das ligas para verificar os percentuais de Ti e Nb que compõe cada liga. Nessa análise foi subtraído da média o elemento oxigênio proveniente da camada natural que envolve o nióbio e as ligas e também foi removido o silício, que é um resquício proveniente do processo de polimento. O processo de polimento foi executado até atingir-se o espelhamento da amostra, o que produziu superfícies com rugosidades muito baixas – escala nanométrica.



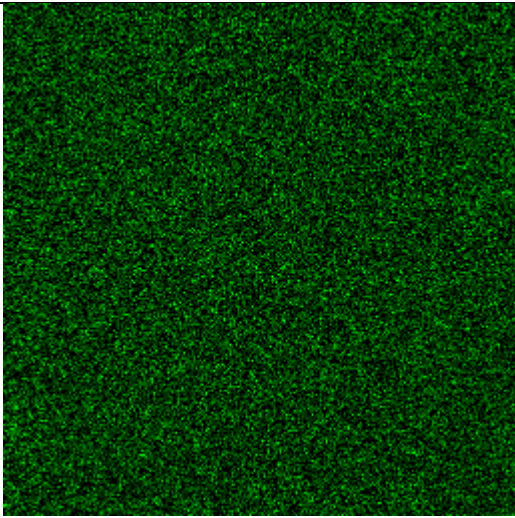
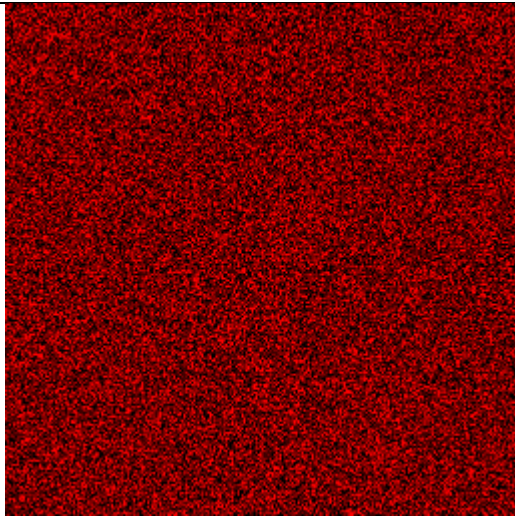
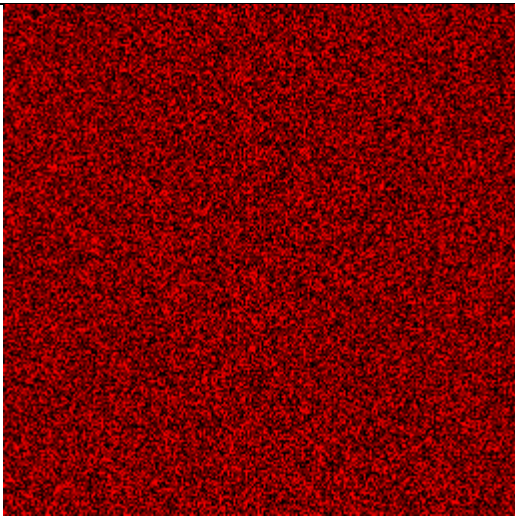
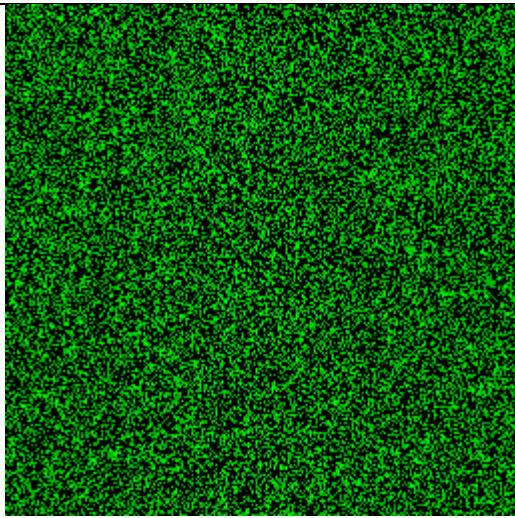
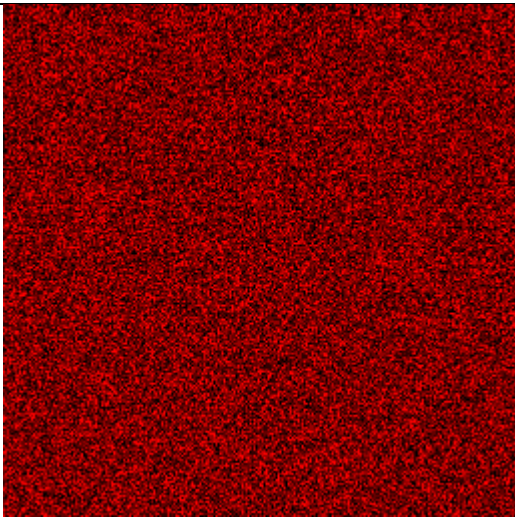
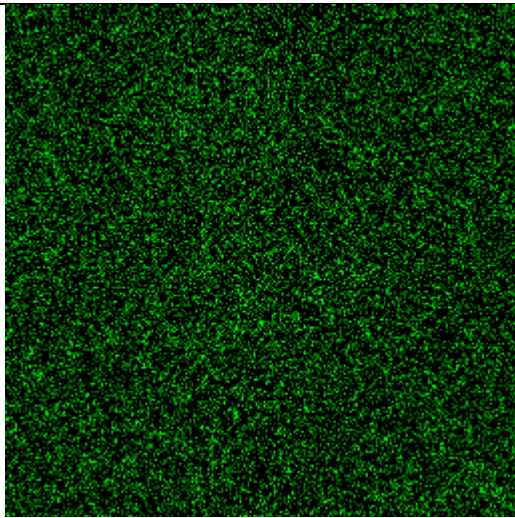
|      | Distribuição do Nb  | Distribuição do Ti   |
|------|---|--|
| Nb50 |    |    |
| Nb80 |   |   |
| Nb90 |  |  |

Figura 5. 1: Mapeamento por EDS feito sobre as superfícies das ligas Nb50, Nb80 e Nb90 polidas. Obs: Os elementos oxigênio (proveniente de óxido natural) e silício (proveniente do abrasivo usado no polimento) foram omitidos.



Tabela 5. 1: Porcentagem em peso dos elementos químicos obtidos por EDS, densidade e rugosidade das ligas e dos metais polidos.

| Amostra     | Nb (%)     | Ti (%)     | Densidade teórica (g.cm <sup>-3</sup> ) | Densidade medida (g.cm <sup>-3</sup> ) | Rugosidade Sa (μm) | Rugosidade Ra (μm) |
|-------------|------------|------------|---|--|--------------------|--------------------|
| <b>Nb50</b> | 49,5 ± 0,3 | 50,5 ± 0,3 | 6,507                                   | 6,5 ± 0,6                              | 0,03 ± 0,01        | 0,014 ± 0,002      |
| <b>Nb80</b> | 80,9 ± 0,2 | 19,1 ± 0,2 | 7,707                                   | 7,8 ± 0,4                              | 0,06 ± 0,01        | 0,005 ± 0,01       |
| <b>Nb90</b> | 89,8 ± 0,2 | 10,4 ± 0,2 | 8,107                                   | 8,2 ± 0,4                              | 0,04 ± 0,01        | 0,03 ± 0,01        |
| <b>Nb</b>   | 100        | 0          | 8,570                                   |  | 0,018 ± 0,008      | 0,008 ± 0,001      |
| <b>Ti</b>   | 0          | 100        | 4,507                                   |  | 0,05 ± 0,01        | 0,02 ± 0,01        |

A figura 5.2 mostra o difratograma das amostras das ligas e do nióbio. Os picos presentes no espectro são referentes ao nióbio (cúbico de corpo centrado) e Ti β estabilizado. É importante ressaltar que os picos de Nb e de Ti β se sobrepõem, não possibilitando a identificação de qual pertence ao Nb ou ao Ti β. Todas as ligas não apresentam outras fases sendo todas do Tipo β.

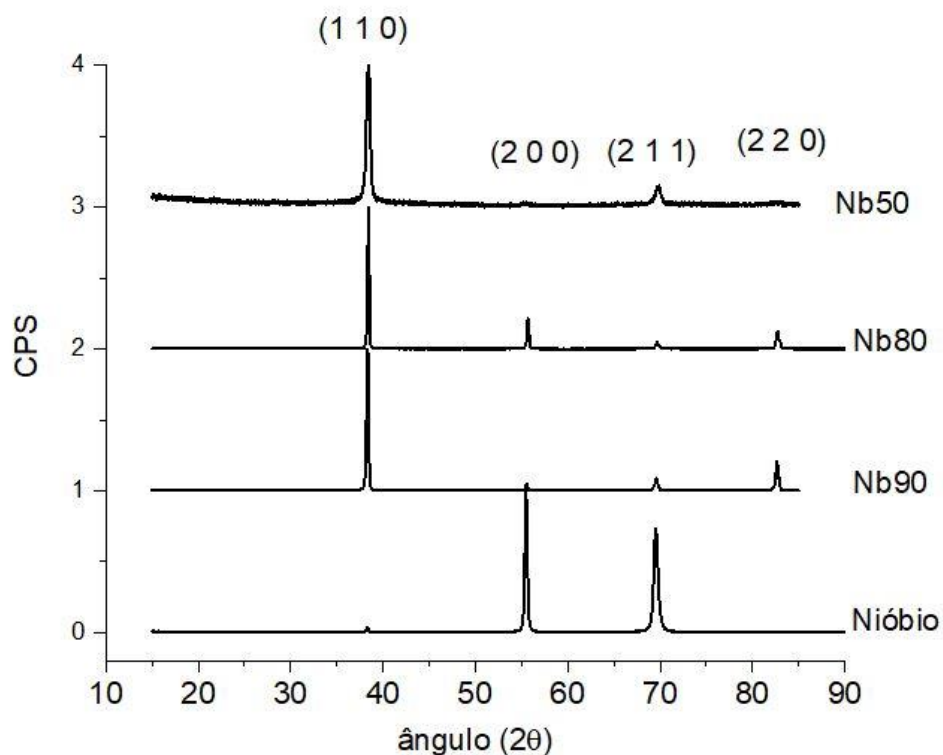


Figura 5. 2: Espectro de difração de raios-X de amostras polidas de nióbio e liga Nb50, Nb80 e Nb90.

A microestrutura da liga foi observada por microscopia ótica (Fig.5.3) após sucessivos processos de polimento e ataque ácido com solução Kroll. Todas as amostras apresentaram grãos de característica equiaxiais. Durante este processo a liga Nb50 apresentou um tempo significativamente mais curto para revelar os contornos de grãos, seguido pela Nb80 e Nb90 consecutivamente. A liga Nb50 apresenta área de grãos maiores ( $0,7 \pm 0,2 \text{ mm}^2$ ), seguido pela Nb90 ( $0,4 \pm 0,2 \text{ mm}^2$ ) e pela Nb80 ( $0,2 \pm 0,2 \text{ mm}^2$ ). Para a medida da área dos grãos foi utilizado o software *ImageJ*.

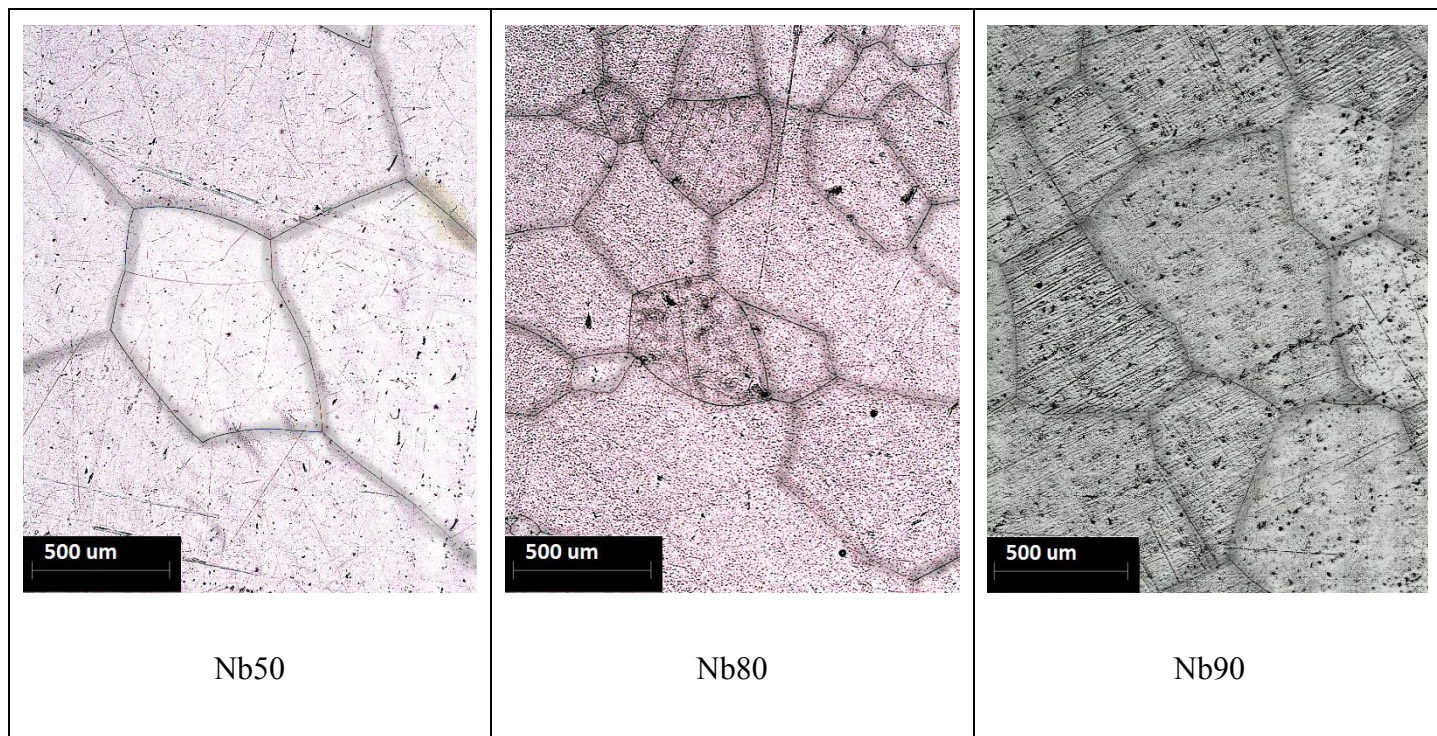


Figura 5. 3: Microestrutura das ligas Nb50, Nb80, Nb90 polidas e posteriormente atacadas com solução ácida. Imagens obtidas por microscopia ótica com as linhas de contorno de grãos realçadas por software de imagem.

As amostras polidas e limpas foram submetidas a testes mecânicos através da técnica de nanoindentação. Na figura 5.4 temos o módulo de elasticidade e a dureza dos substratos estudados para a profundidade de  $3\mu\text{m}$ . Para profundidades menores atingidas pela ponta tem-se um valor mais alto tanto do módulo de elasticidade  $E$  quanto da dureza  $H$ . Os valores de  $E$  e  $H$  em função da profundidade de penetração do nanoindetador para as ligas e para o nióbio serão vistos em subseções adiante. Valores maiores para profundidades menores se devem ao fenômeno deformação da rede cristalina em regiões mais superficiais causados pelo processo de lixamento e polimento das superfícies. Para profundidades maiores foram obtidos valores com menores influências do processo de deformação cristalina o que produz resultados mais confiáveis, pois dependem menos do processo de preparação da superfície.

Comparativamente, as amostras de nióbio puro Nb e as ligas com 80 e 90% de nióbio não apresentaram diferenças significativas quanto ao  $E$  e quanto à  $H$ . As amostras Nb, Nb90 e Nb80 apresentam respectivamente módulo de elasticidade de 99GPa, 96GPa e 94GPa e dureza de 1,9 GPa, 1,8 GPa e 1,9 GPa na profundidade medida de  $3\mu\text{m}$ .

Quando comparado com o Ti comercialmente puro de grau 2, o módulo de elasticidade do Nb e das ligas apresentou valores e menores de E e de H.

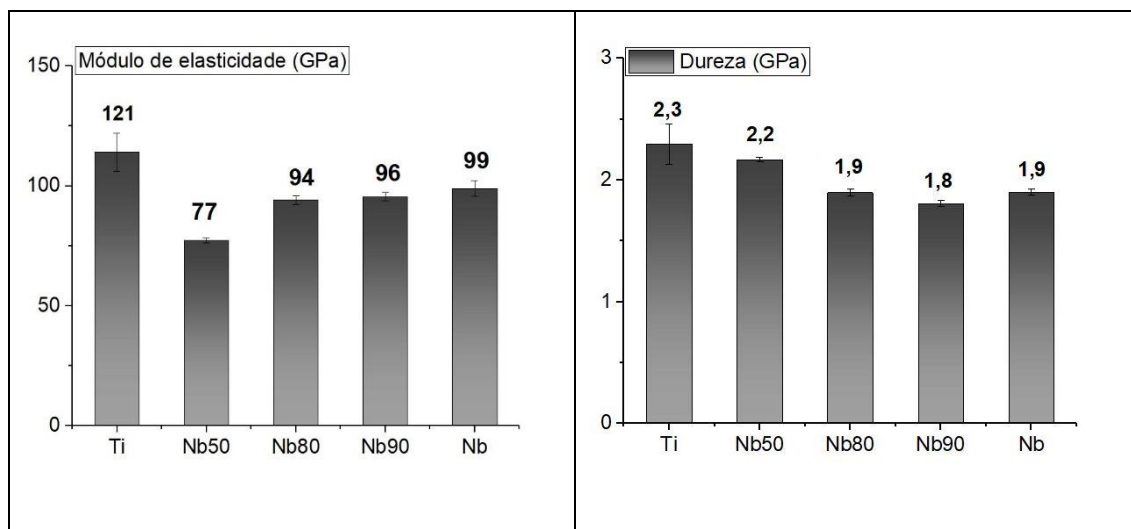


Figura 5. 4: Módulo de elasticidade (lado esquerdo) e dureza (lado direito) de amostras polidas de Ti, ligas Nb50, Nb80, Nb90 e do Nb na profundidade de penetração aproximada de 3 $\mu$ m.

As superfícies polidas de Nb, Ti e das ligas foram submetidas a testes de molhabilidade, viabilidade celular com MTT e os resultados obtidos estão na Figura 5.5. O menor ângulo encontrado (superfície mais hidrofílica) foi em amostras da liga Nb50 seguido pela Nb80, Ti e Nb90 e por último para o nióbio. No entanto, não houveram grandes diferenças entre os ângulos de contato medidos entre todas as superfícies medidas. Mesmo não havendo diferenças significativas na hidrofiliidade, essa pequena variação causou variações na quantidade de células ósseas por unidade de área aderidas às superfícies. Quanto mais hidrofílica a superfície maior a quantidade de células aderidas por unidade de área.

Para o teste de adesão celular o desempenho no teste foi normalizado a partir do Ti (100%), pois é o substrato mais estudado entre os substratos utilizados neste trabalho em aplicação em biomateriais. A liga 50Nb apresentou desempenho em média 25% superior ao Ti, a Nb80 16% e a Nb90 4%. Enquanto que o Nb obteve um desempenho um pouco inferior de -3%. Quanto a rugosidade, não foi detectada uma relação entre a rugosidade superficial e a densidade de células aderidas ou na molhabilidade (ângulo de contato).

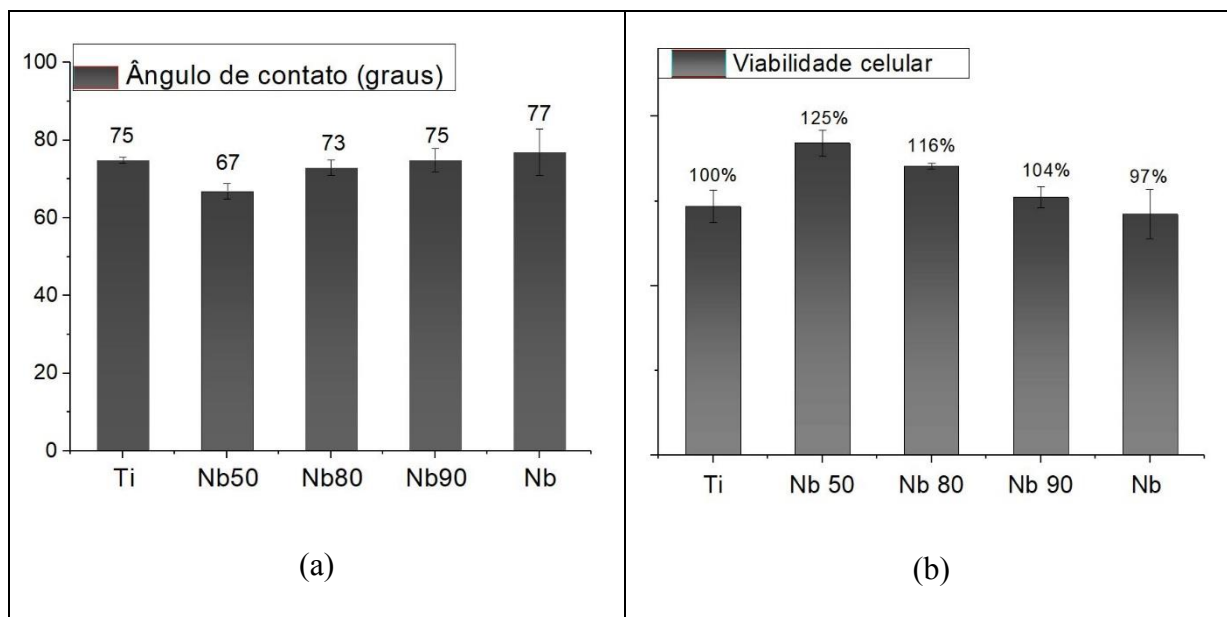


Figura 5. 5: Ângulos de contatos entre a superfície e gotas de água depositadas sobre a superfície polida do Nb, Ti e ligas Nb50, Nb80 e Nb90 (lado direito) e viabilidade celular em função da área das mesmas superfícies dos metais e ligas (lado esquerdo).

A tabela 5.2 mostra os parâmetros eletroquímicos obtidos através da análise das curvas de polarização potenciodinâmica das ligas e dos metais. O potencial elétrico de corrosão mostrou-se mais nobre (maior) quanto maior a porcentagem de nióbio. Quanto a corrente de corrosão  $i_{\text{corrosão}}$ , nas ligas também é maior quanto maior a quantidade nióbio (também a densidade de corrente  $j_{\text{corrosão}}$ , pois todas as áreas medidas eram iguais). No entanto quando comparadas com o Ti e o Nb, a liga Nb90 possui uma  $i_{\text{corrosão}}$  maior que o nióbio puro. Já titânio apresenta a maior corrente de corrosão entre todos os substratos analisados. Quanto a resistência à polarização, a Nb90 apresenta o menor valor entre todos os substratos, o Ti apresenta o maior valor entre os metais e a Nb80 apresenta o valor mais alto entre todos os substratos analisados. A resistência à polarização é inversamente proporcional à  $i_{\text{corrosão}}$ , no entanto os valores não estão dispostos prontamente em maneira inversa de magnitude pois dependem das constantes  $b_a$  e  $b_c$  como mostra a eq. 5.1<sup>156</sup>:

$$i_{\text{corrosão}} = \frac{b_a \cdot b_c}{2.303(b_a + b_c)} \frac{1}{R_p} \quad \text{eq. 5.1}$$

Para o cálculo da taxa de corrosão foram utilizados a  $i_{\text{corrosão}}$ , a massa específica  $\rho$ , o peso equivalente do elemento EW (valor calculado de acordo com a eq. 8.4 - ver anexo). Os valores das constantes  $b_a$  e  $b_c$  foram obtidos automaticamente pelo software do aparato

de medida de corrosão, no entanto esses valores podem ser obtidos através da análise das curvas de Tafel como demonstrado no anexo. Esses valores foram aplicados à Eq. 5.2<sup>156</sup>:

$$C_R = K \frac{J_{cor} \cdot EW}{\rho} \quad \text{Eq. 5.2}$$

Onde a constante  $K = 3,27 \text{ mm} \cdot \text{g} \cdot \text{A}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{yr}^{-1}$ . A liga Nb50 apresentou a menor taxa de corrosão, seguido pela Nb80. Quanto aos metais o Nb apresentou o melhor valor, enquanto que o Ti apresentou a maior taxa de corrosão por ano entre todos os materiais analisados.

Tabela 5. 2: Parâmetros eletroquímicos obtidos pela curva de polarização ponteciodinâmica (Fig. 5.6).

|   | <b>Ti</b> | <b>Nb50</b> | <b>Nb80</b> | <b>Nb90</b> | <b>Nb</b> |
|---|-----------|-------------|-------------|-------------|-----------|
| <b><math>E_p</math> corrosão (V)</b>                                    | -0,6125   | -0,5965     | -0,5715     | -0,4984     | -0,4585   |
| <b><math>i</math> corrosão (<math>10^{-5}</math> A)</b>                 | 5,59      | 2,00        | 2,19        | 4,97        | 3,38      |
| <b><math>j</math> corrosão (<math>10^{-5}</math> A.cm<sup>-2</sup>)</b> | 4,94      | 1,77        | 1,94        | 4,39        | 2,99      |
| <b>Resistência à polarização (<math>10^9 \Omega</math>)</b>             | 1,53      | 1,46        | 1,64        | 0,869       | 1,20      |
| <b><math>b_a</math> (V/década)</b>                                      | 0,744     | 0,163       | 0,283       | 0,210       | 0,218     |
| <b><math>b_c</math> (V/década)</b>                                      | 0,266     | 0,114       | 0,117       | 0,189       | 0,164     |
| <b>Peso equivalente EW (adimensional)</b>                               | 11,98     | 14,56       | 16,73       | 17,61       | 18,58     |
| <b>Taxa de corrosão (<math>10^{-2}</math> mm/ano)</b>                   | 4,30      | 1,30        | 1,37        | 3,12        | 2,12      |

A Figura 5.6 mostra as curvas de polarização potenciodinâmica das ligas TiNb, do nióbio e do titânio em solução PBS. Nesse experimento a diferença de potencial elétrico (d.d.p) entre a amostra e o eletrodo de referência variou de maneira crescente de -1,5 V até 2,5 V. Em resposta à variação de d.d.p uma corrente de portadores de carga elétrica (íons e elétrons) atravessa o sistema experimental e é medida e apresentada em escala logarítmica. Todas as curvas apresentam características corrosivas com curvas semelhantes. A região entre as linhas tracejadas horizontais mostra uma alteração da inclinação nas curvas que é o indicativo da formação da camada passivante sobre o substrato metálico. O valor de d.d.p. para o início da camada passivante está entre -0,06 V e 0,08 V. Após a alteração da inclinação nas curvas um patamar aparece (pouca variação na densidade de corrente) que é característico da formação da camada protetiva de óxido. Essa camada dificulta a passagem de corrente e quando ela é danificada é observada um aumento súbito na corrente que na Figura 5.6 está indicado por flechas e pelos valores das d.d.p.'s correspondentes que romperam o filme passivante. No caso em



questão, quanto maior o valor da d.d.p. melhor o desempenho da camada protetiva de óxido. Dentre as amostras, as ligas Nb80 e Nb50 não apresentaram sinais de ruptura do filme protetivo no intervalo analisado, já a liga Nb90, Nb e o Ti apresentaram para as d.d.p.'s de 1,18 V, 1,61 V e 1,91 V. Outro ponto observável é que menos corrente passa pelas ligas Nb80 e Nb50 (camada protetiva mais eficiente) na faixa de d.d.p. analisada.

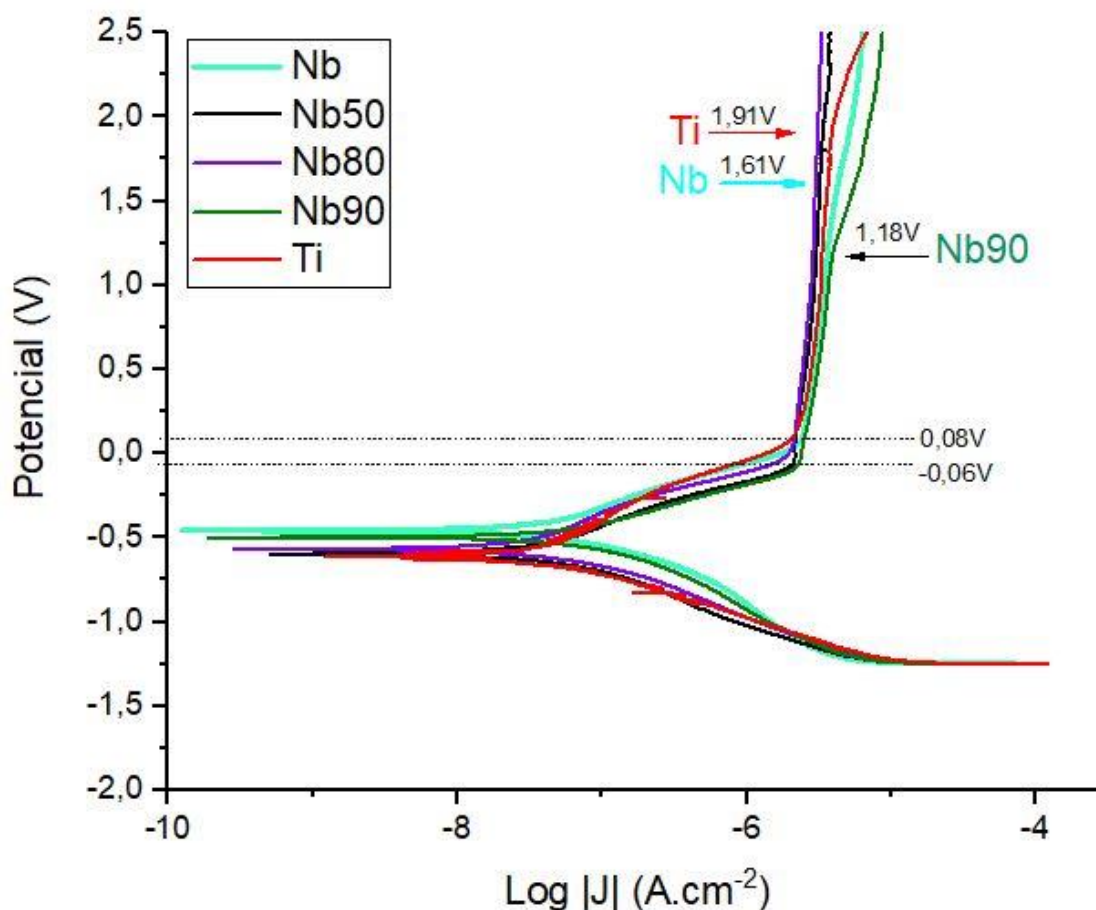


Figura 5. 6: Curvas de polarização potenciodinamica das ligas Nb90, Nb80 e dos metais titânio e nióbio.

#### Discussão sobre os resultados das ligas, Nb e Ti

O processo de confecção das ligas foi realizado com sucesso, pois os elementos componentes estão bem distribuídos e seguem as proporções projetadas previamente, como observado nas análises de EDS por mapeamento. Quanto a massa específica das ligas, elas se apresentam próximas aos valores teóricos calculados.



A difração por raio-X demonstrou somente a presença de picos referentes ao nióbio e a fase  $\beta$  do Ti, os quais foram comparados com os padrões correspondentes ao Nb e  $\beta$ -Ti da base de dados PDF2. Ressalta-se que a posição em relação ao eixo x, os picos do Nb e  $\beta$ -Ti se sobrepõe, ou seja, não é possível distingui-los desta maneira. Uma possível maneira poderia ser observando-se as intensidades que foram normalizadas a partir do pico mais intenso de cada amostra. Observou-se que os padrões de difração pouco mudaram. Para o Nb o pico mais intenso é o (2 0 0), enquanto que para as ligas é o (1 1 0) e os padrões da liga Nb90 e Nb80 são muito parecidos. No entanto, os padrões de DRX da base de dados PDF2, tanto o Nb quanto o  $\beta$ -Ti apresentam o pico (1 1 0) mais intenso. Os grãos revelados pelas imagens das superfícies atacadas com solução Kroll das ligas Nb90, Nb80 e Nb50 são do tipo equiaxiais, que é uma característica típica da formação completa da fase beta<sup>83</sup>, o que está de acordo com os espectros de DRX.

Para aplicação em implantes ósseos é desejável que o material que esteja em contato com o tecido ósseo tenha módulo de elasticidade mais próximo ao do tecido ósseo (~40GPa) para evitar o fenômeno de *stress shielding* e alta dureza para garantir sua integridade após solicitações mecânicas<sup>9</sup>. Nesse quesito o substrato que mais se aproxima das qualidades mecânicas desejadas foi o Nb50. O Nb50 apresentou módulo de elasticidade de 77 GPa e dureza de 2,2 GPa na profundidade de 3  $\mu$ m. As ligas de Nb80 (94GPa) e Nb90 (96GPa) apresentaram valores de E levemente menores que o Nb (99GPa). Os valores de E do Nb e das ligas são consideravelmente menores que o Ti (114GPa) e de ligas de Ti do tipo  $\alpha$  e  $\alpha + \beta$  (~120GPa) que são materiais amplamente utilizadas em bio-implantes<sup>34</sup>.

A faixa de diferença de potencial elétrico  $E_p$ , em relação ao eletrodo de referência, foi suficiente pois formou-se as curvas desejadas, o que possibilitou obter as informações sobre o comportamento eletroquímico presentes na tabela 5.2. Outro ponto importante é que o corpo humano normalmente não excede o potencial elétrico de 2,5 V <sup>157</sup>, o que está de acordo com a finalidade deste estudo, pois escolhemos a faixa de -1,5 até 2,5 V de d.d.p.

Quanto ao desempenho dos substratos, materiais com taxa de corrosão inferior a 0,1 mm por ano são considerados resistentes à corrosão e podem ser usados sem restrição<sup>158</sup>. Ou seja, na solução PBS em temperatura ambiente todos os substratos

apresentam ótima resistência à corrosão, com destaque para as ligas Nb80 e Nb50 que apresentaram as menores taxas de corrosão.

Com o aumento do potencial elétrico em relação ao eletrodo de referência se inicia o processo de anodização, aumentando a camada de óxido protetivo. As camadas mais eficientes são as que não apresentam sinais de rompimento e permitem menor passagem de corrente de cargas elétricas. A liga Nb80 seguido pela Nb50 apresentaram as camadas de óxido protetivo mais eficientes pois não apresentaram sinais de rompimento (aumento da corrente) e mais baixa passagem de corrente entre os substratos analisados.

O potencial de corrosão é proporcional a quantidade de Nb nos substratos analisados, o que pode ser observado pelos picos na Fig. 5.6 e na tabela 5.2. Isto também foi observado Kaseen e Choe para ligas com menores quantidades de Nb e para a Nb50. Nesse mesmo estudo avaliou-se que as taxa de corrosão das ligas com 10%, 30% e 50% de Nb diminuem com o aumento do percentual deste elemento<sup>83</sup>. No caso deste estudo a taxa de corrosão diminui com a diminuição do percentual de Nb. Ou seja, existe a tendência que razões Ti/Nb (peso)  $\sim 1$  apresentem melhores desempenhos anticorrosivos nas condições deste experimento.

Quanto ao teste de molhabilidade, não houveram grandes diferenças entre os ângulos de contato com a água medidos entre todas as superfícies medidas e todas são classificadas como hidrofílicas (ângulo de contato  $< 90^\circ$ )<sup>159</sup>. A hidroflicidade da superfície é considerada um dos principais fatores que melhoram a adesão celular<sup>116,160</sup>. Mesmo não havendo diferenças significativas na hidroflicidade entre as ligas, Nb e Ti, essa pequena variação causou variações na quantidade de células ósseas (MC3T3) por unidade de área aderidas às superfícies (quanto mais hidrofílica a superfície, maior a quantidade de células aderidas por unidade de área no substratos). Entre o Nb, Ti e as ligas Nb50, Nb80 e Nb90 a que apresentou melhor resposta ao teste de células foi a Nb50 (desempenho 25% superior ao Ti), seguida pela Nb80 (16%). Além da molhabilidade a rugosidade também pode influenciar na adesão celular<sup>116</sup>. As superfícies foram polidas até atingir o espelhamento apresentaram rugosidade nanométrica. Algumas diferenças na rugosidade superficial dos substratos ocorreram, porém não foi observada relação entre as pequenas diferenças na rugosidade superficial das amostras e a densidade de células aderidas e na molhabilidade.

## Conclusão a respeito das ligas e metais polidos

Foram produzidas ligas binárias de Ti e Nb nas proporções de 50% (Nb50), 80% (Nb80) e 90% (Nb90) em peso de Nb para utilização na área de implantes ortopédicos e ortodônticos. As ligas binárias foram comparadas com os metais puros componentes Nb e Ti e os resultados foram:

- Os difratogramas de raio-X demonstraram somente a formação fase cristalina cúbica para as todas as ligas. A fase cúbica é referente ao Ti estabilizado na fase beta e/ou da fase referente ao Nb. Os contornos de grão das ligas apresentaram formas com tendências equiaxiais que é um outro indicativo de estrutura cristalina cúbica.
- Todas as ligas apresentam módulos de elasticidade menores quando comparados com os metais Nb (99GPa) e Ti (114GPa). Entre as ligas a que se destaca é a Nb50 (77GPa), seguida pela Nb80 (94GPa) e Nb90 (96GPa). Quanto a dureza, a Nb50 é a liga que apresenta maior valor de (2,16GPa).
- Todas as ligas e o Nb apresentaram menores taxas de corrosão que o Ti em solução PBS. As taxas de corrosão mais baixas foram as medidas na Nb50 e Nb80. Adicionalmente estas ligas também apresentaram camadas de óxido protetivo mais eficientes.
- Pequenas variações na molhabilidade causaram variações na quantidade de células ósseas por unidade de área aderidas às superfícies. Quanto mais hidrofílica a superfície maior a quantidade de células aderidas por unidade de área nas superfícies analisadas. O substrato que apresentou melhor resposta ao teste de células foi a Nb50 (com desempenho 25% superior ao Ti).

Observando os resultados deste estudo e comparando com o estudo de ligas binárias com menores percentuais de Nb (abaixo de 50%), podemos afirmar que proporções de ligas com razão Ti/Nb  $\sim 1$  tendem a apresentar características melhores para a aplicação em implantes ósseos.

**6 Resultados da oxidação em até quatro etapas nas ligas e no nióbio:** caracterização da morfologia, composição química, viabilidade celular, fases cristalinas e propriedades mecânicas.

#### Morfologia e porosidade

A figura 6.1 a – d mostra a morfologia das amostras da primeira etapa da oxidação obtidas por MEV na ampliação de 3000x. Essas amostras foram oxidadas em ácido fosfórico e servem com uma pré-camada para as oxidações posteriores. A imagem mostra a formação de esferóides relativamente bem distribuídos pela superfície. Todas as morfologias são distintas e algumas apresentam o início de uma formação porosa como a Nb80 e a Nb90. Essas duas superfícies apresentam ilhas destacadas com poros sobre o que parece ser a evolução dos esferóides.

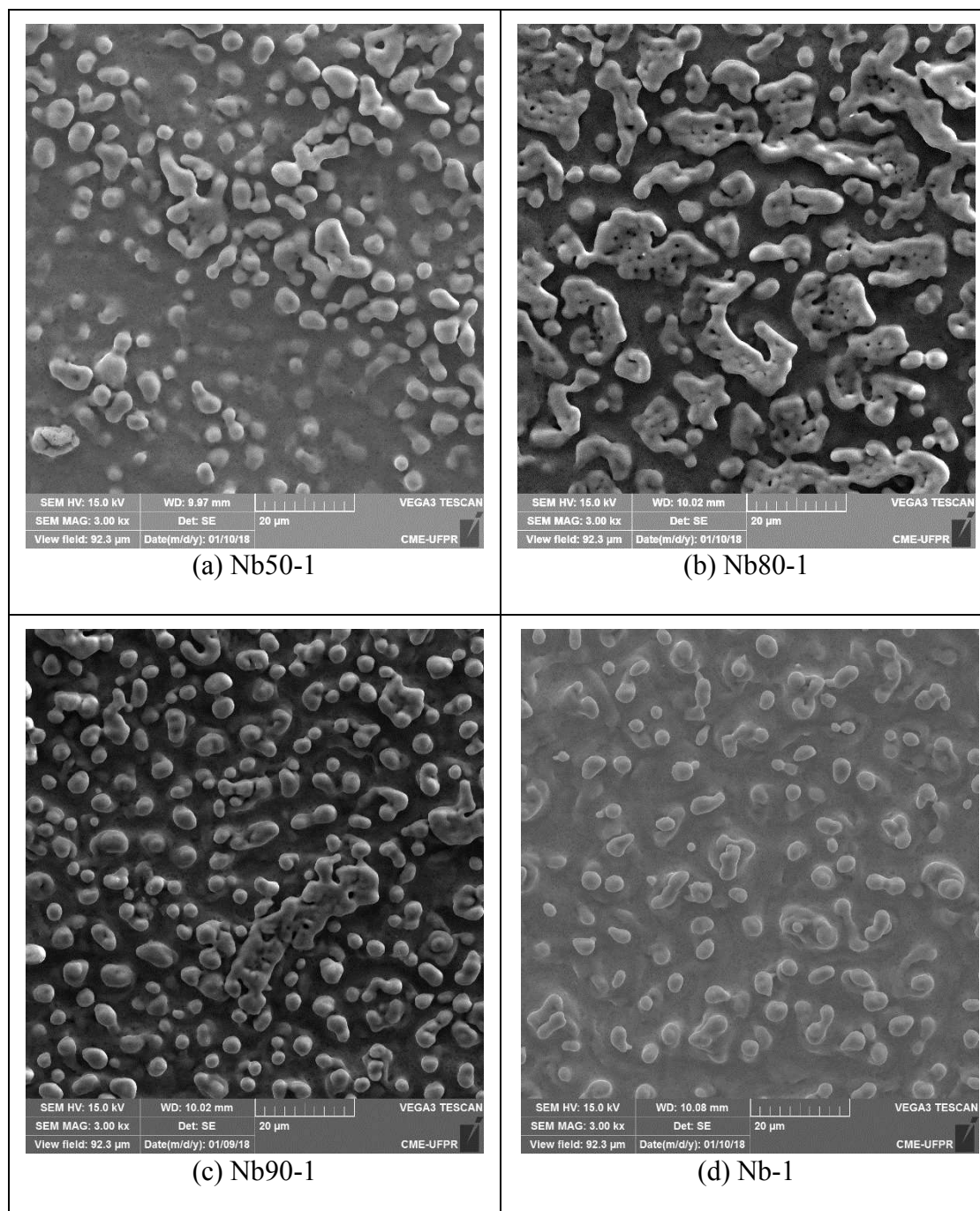


Figura 6. 1: Amostras das ligas Nb50 (a), Nb80 (b), Nb 90 (c), e Nb tratadas por oxidação de plasma eletrolítico na primeira etapa com ampliação de (3000x)

A partir da reoxidação em eletrólito de cálcio (segunda etapa) observou-se uma formação porosa como mostra a Figura 6.2. Apesar dos parâmetros experimentais serem os mesmos para as diferentes ligas e para o Nb, houve poucas diferenças nas morfologias produzidas.

Para todas as amostras tem-se duas formações distintas: poros e sulcos (pouquíssima formação), sendo a formação dos sulcos característica da junção de poros<sup>161</sup>. A Nb50-2 apresentou formação de poros relativamente pequenos que se formaram em linhas. Essa formação se deve a ao aparecimento de trincas durante a oxidação.

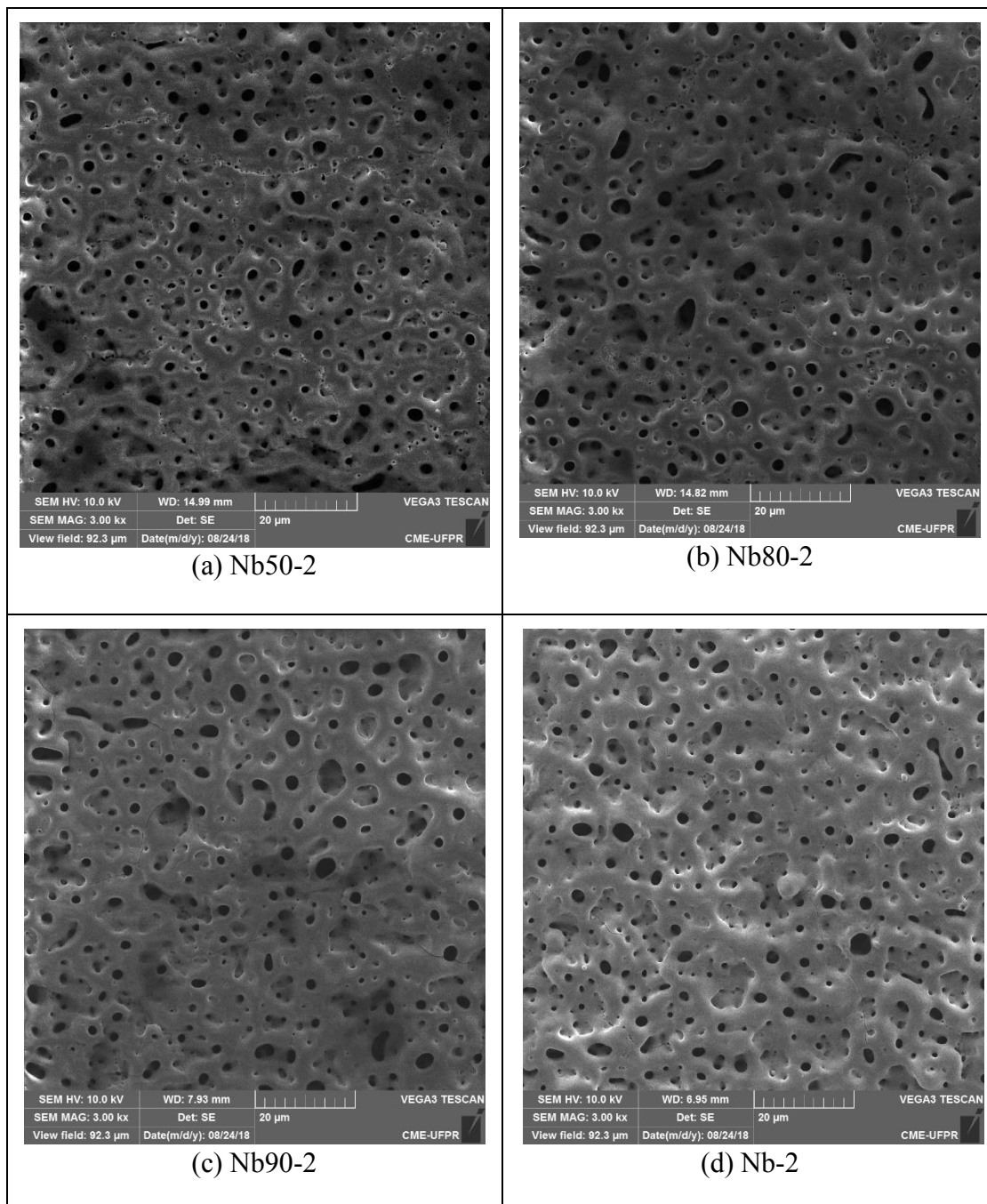


Figura 6. 2: Superfície das ligas Nb50 (a), Nb80 (b), Nb 90 (c), e Nb tratadas por oxidação de plasma eletrolítico na segunda etapa com ampliação de 3000x evidenciando a presença de poros e sulcos.

A Figura 6.3 mostra a distribuição dos poros a partir de seu diâmetro. É possível observar que a porosidade das superfícies produzidas se concentra principalmente na faixa que se estende da nanométrica ( $<1\ \mu\text{m}$ ) até a sub-micrométrica ( $3\ \mu\text{m}$ ), sendo que a maior parcela dos poros possui diâmetro menor que  $1\ \mu\text{m}$ .

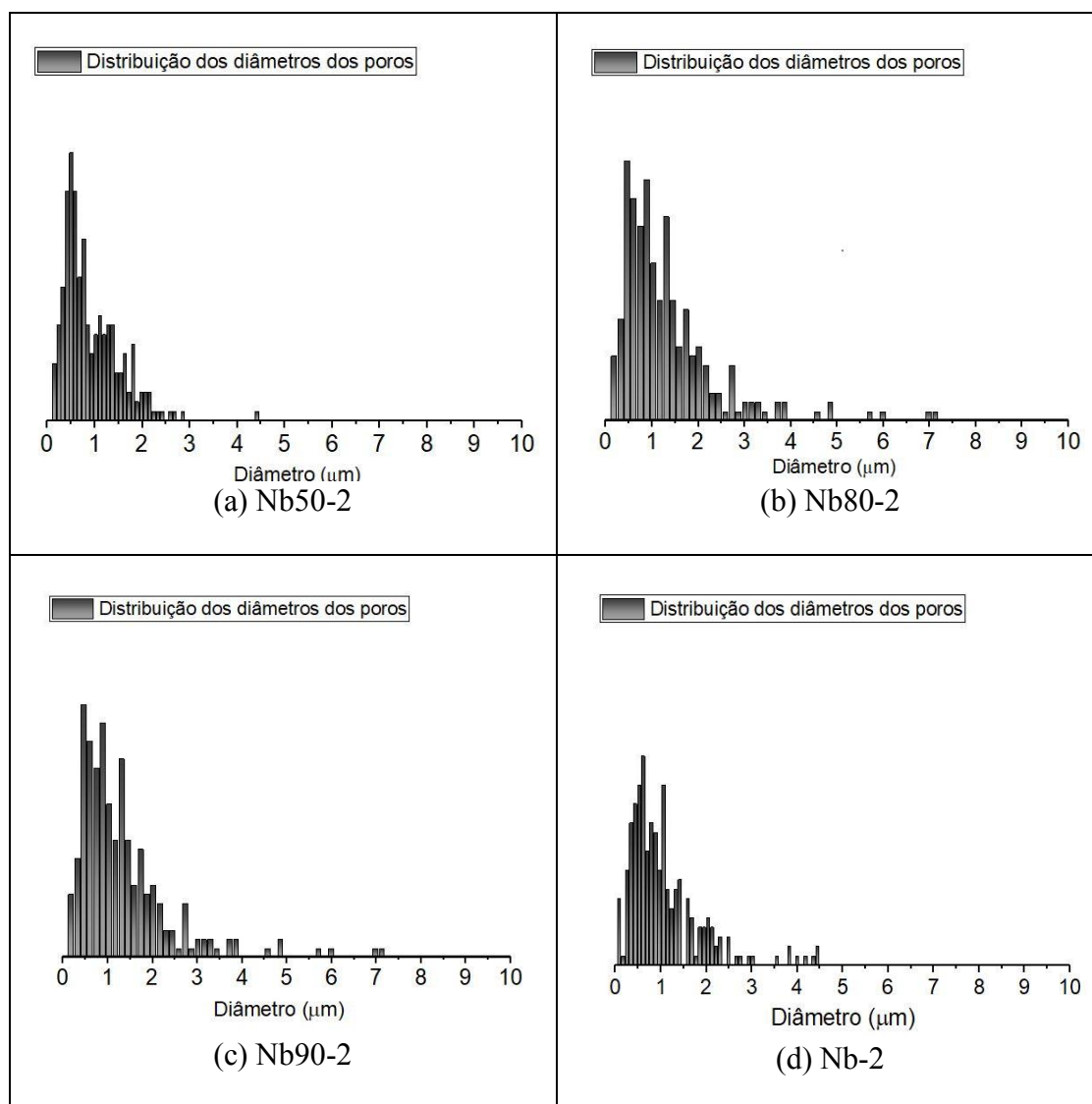


Figura 6. 3: Distribuição das medidas dos diâmetros dos poros das amostras de nióbio e das ligas oxidadas na segunda etapa evidenciando a coexistência de poros nanométricos e sub-micrométricas.

A Figura 6.4 mostra as morfologias das amostras oxidadas até a terceira etapa (eletrólito fosfórico). As morfologias produzidas entre as ligas pouco diferem, no entanto quando comparadas ao Nb, exibem poros maiores, em menor quantidade e com maior variação de tamanho. Há trincas nas amostras Nb-3, porém, essas trincas não possuem

uma formação porosa sobre sua linha, o que sugere que foram causadas pelo vácuo produzido pelo equipamento de microscopia eletrônica.

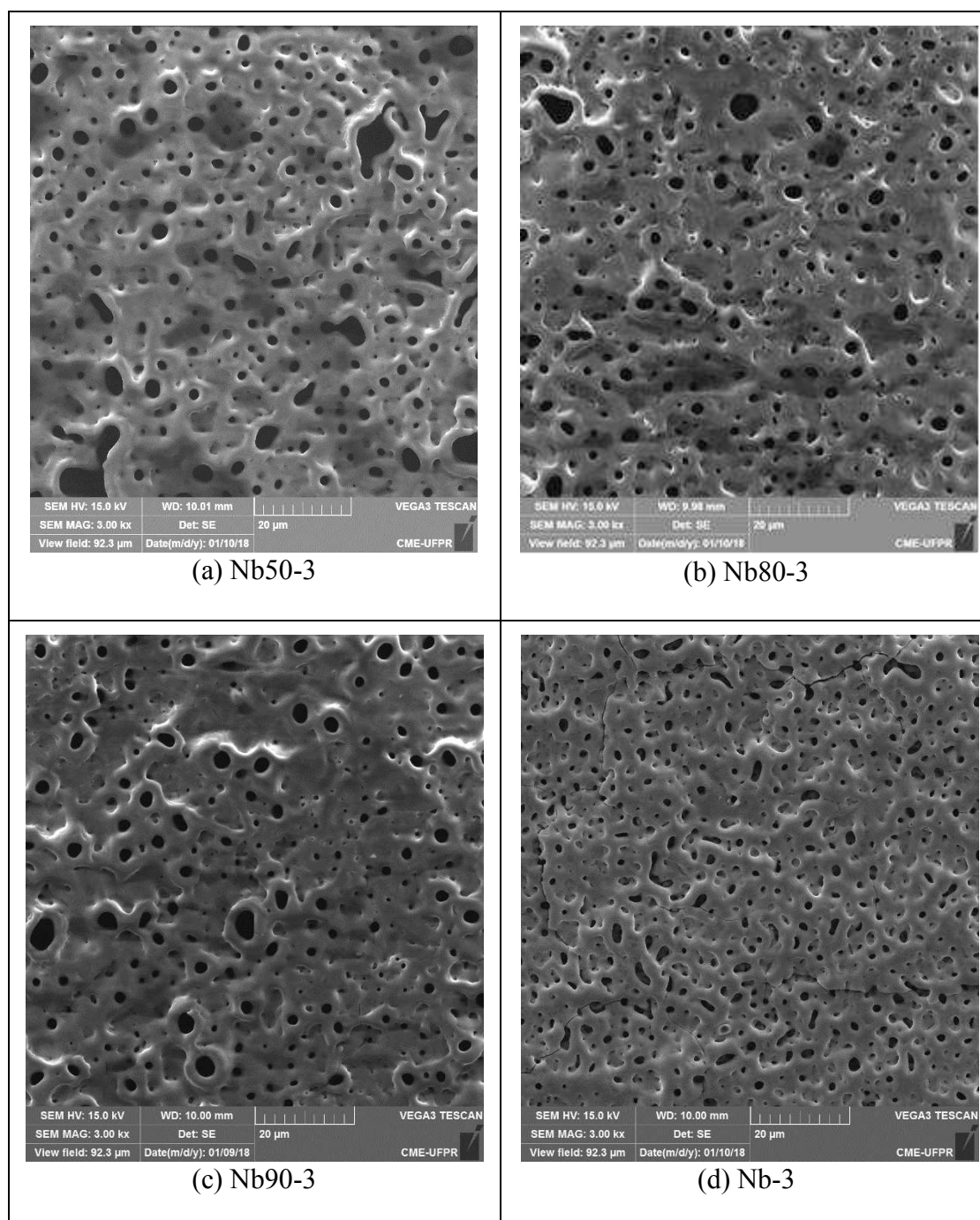


Figura 6. 4: Superfície das ligas Nb50 (a), Nb80 (b), Nb 90 (c), e Nb tratadas por oxidação de plasma eletrolítico na terceira etapa com ampliação de 3000x evidenciando a presença de poros arredondados.



A Figura 6.5 mostra a distribuição dos poros a partir de seu diâmetro das ligas e do Nb oxidados em 3 etapas. É possível observar que a porosidade das superfícies produzidas se concentra principalmente na faixa que se estende da nanométrica até a sub-micrométrica ( $0,5 - 3,0 \mu\text{m}$ ), sendo que a maior parcela dos poros possui diâmetro maior que  $1 \mu\text{m}$ . Comparando a terceira etapa com a segunda é possível afirmar que houve um aumento médio no diâmetro dos poros dos recobrimentos produzidos sobre as ligas. A porosidade do nióbio também seguiu essa tendência só que de maneira menos acentuada.

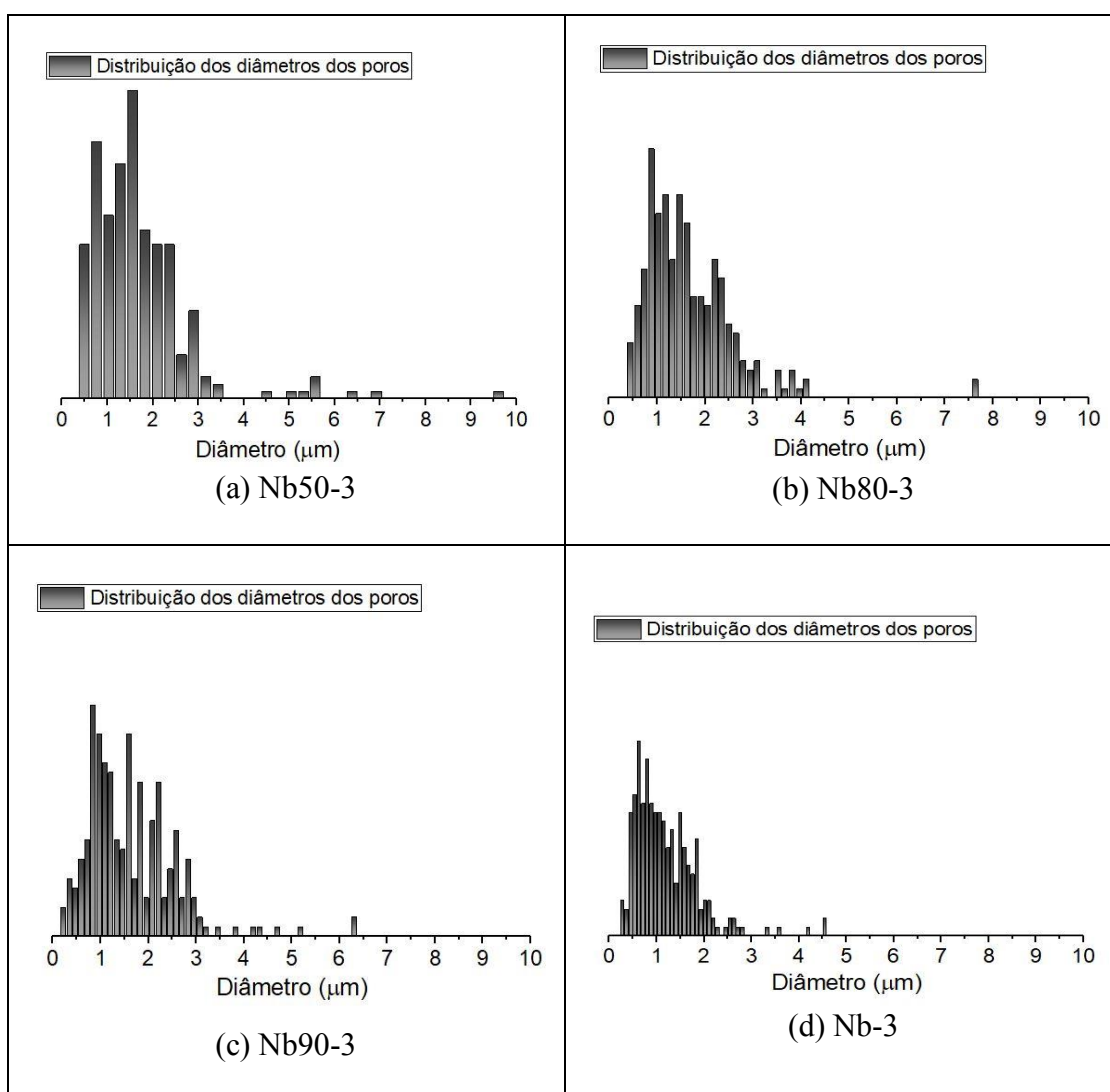


Figura 6. 5: Distribuição das medidas dos diâmetros dos poros das amostras de nióbio e das ligas oxidadas na terceira etapa evidenciando a coexistência de poros nanométricos e sub-micrométricos.

A figura 6.6 mostra as morfologias das amostras oxidadas na quarta etapa (eletrólito de Ca). Essa condição praticamente não apresenta diferenças morfológicas entre os diferentes substratos oxidados. Os poros são maiores e muitos apresentam um formato de vulcão mais definido que nas etapas anteriores. Na amostra de Nb, assim como na etapa anterior, apresenta algumas trincas, que podem ter sido geradas durante o processo de vácuo da análise por microscopia eletrônica.

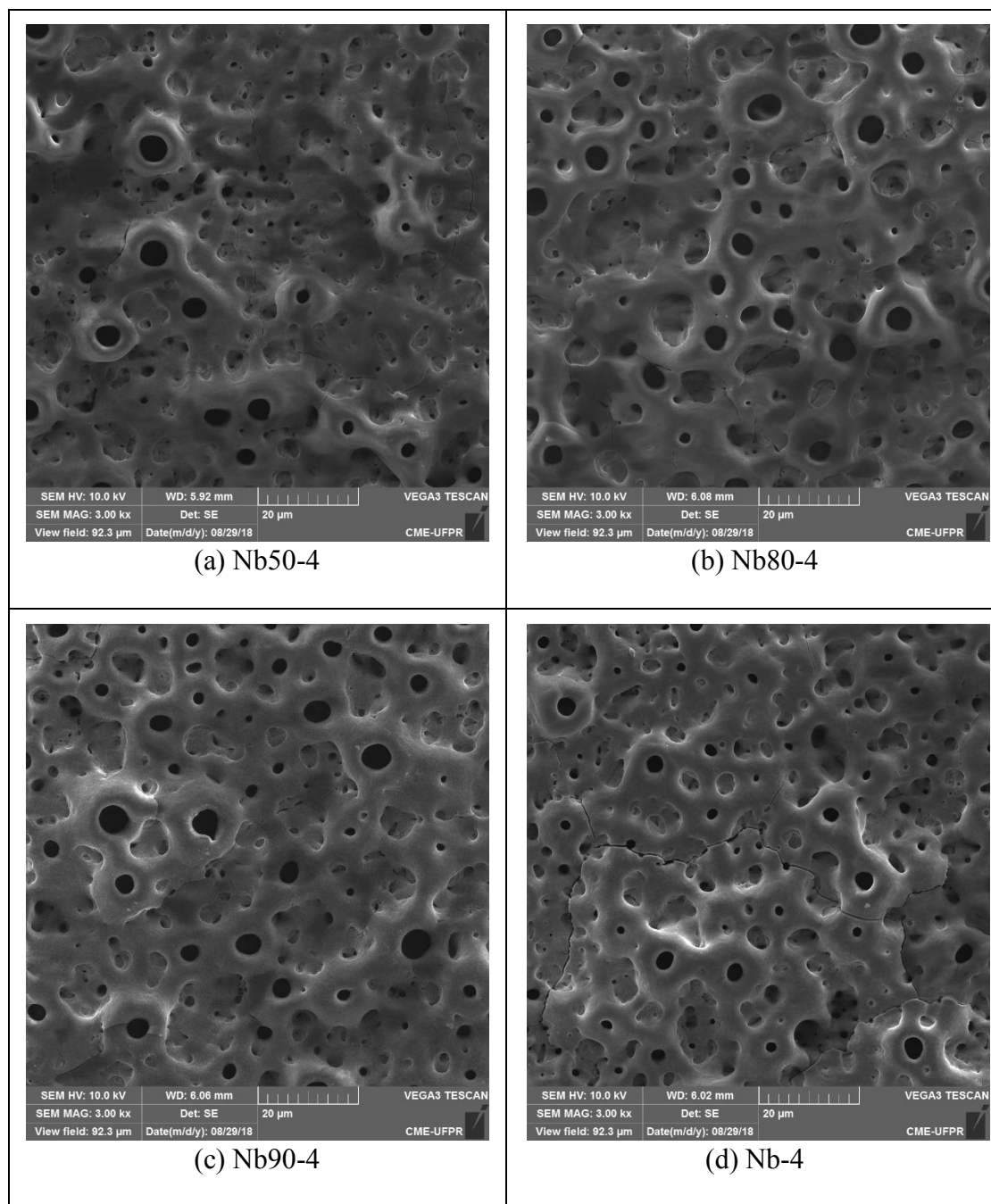


Figura 6. 6: Superfície das ligas Nb50 (a), Nb80 (b), Nb 90 (c), e Nb tratadas por oxidação de plasma eletrolítico na quarta etapa com ampliação de 3000x evidenciado a presença de poros arredondados.

A Figura 6.7 mostra a distribuição dos poros a partir de seu diâmetro das ligas e do Nb oxidados em 4 etapas. É possível observar que a porosidade das superfícies produzidas também se concentra principalmente na faixa que se estende da nanométrica

até a sub-micrométrica. Nessa etapa há alta concentração de poros nanométricos coexistindo com uma maior quantidade de poros com diâmetros maiores que  $3\mu\text{m}$ .

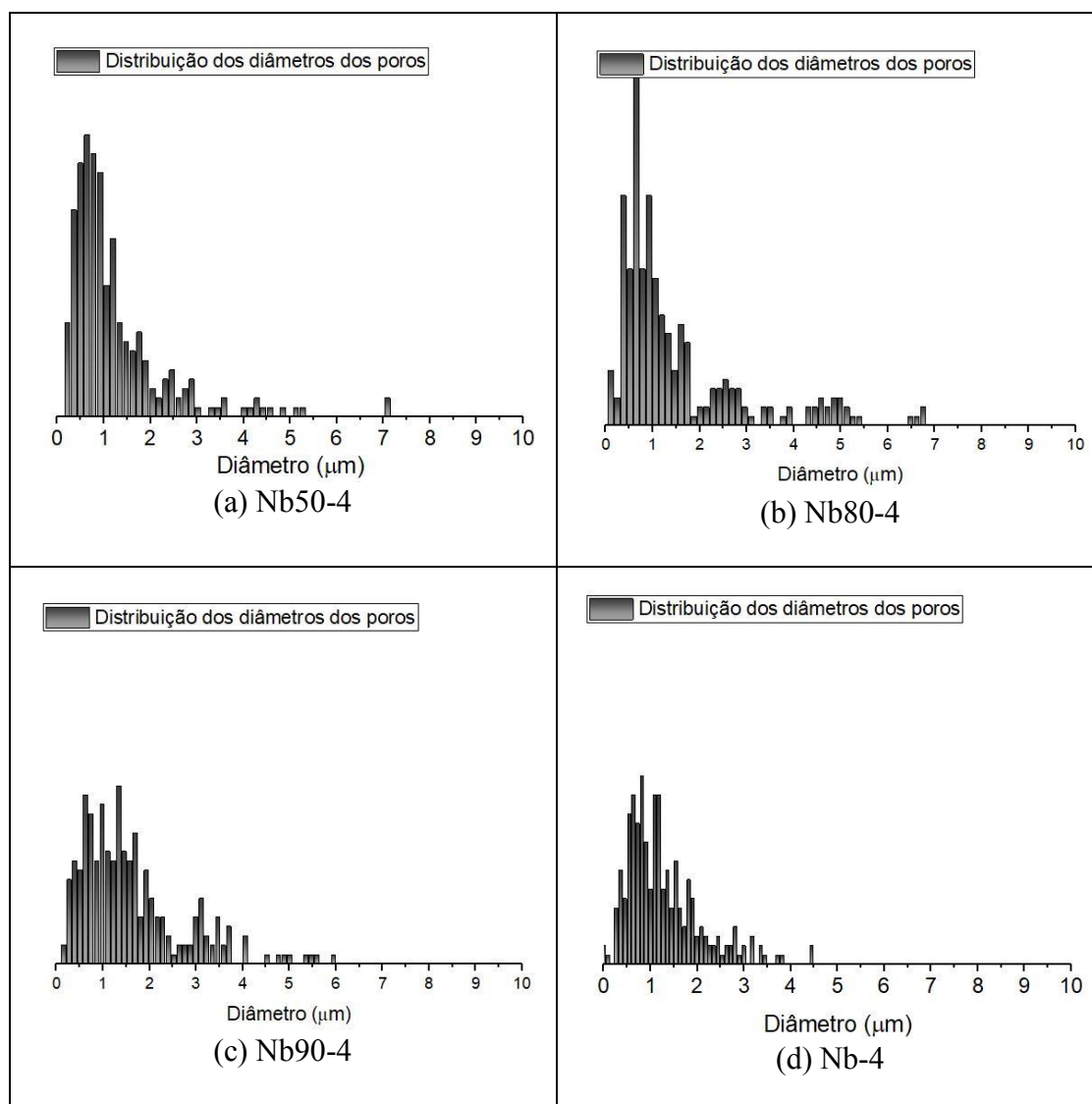


Figura 6. 7: Distribuição das medidas dos diâmetros dos poros das amostras de nióbio e das ligas oxidadas na quarta etapa evidenciando a coexistência de poros nanométricos e submicrométricos.

## Composição química

A Tabela 6.1 apresenta a composição química das superfícies das ligas e do Nb que foram oxidadas em todas as condições. As composições químicas estão expressas a partir do percentual atômico e a razão Ti/Nb estão expressa em percentual por peso. Exceto as amostras oxidadas nas primeiras etapas, todas as oxidações produziram recobrimentos contendo os elementos Ca e P. As superfícies oxidadas com eletrólito fosfórico (linhas azuis na tabela) formaram recobrimentos com percentuais maiores de fósforo e de oxigênio. Assim como as quantidades de cálcio, em percentual, são maiores nas amostras oxidadas em eletrólito de cálcio (amostras terminadas em números pares).

As razões Ti/Nb presentes nos recobrimentos de cada etapa apresentam diferenças quando comparadas com as razões das ligas puras. Para a liga Nb50, Nb80 e Nb 90 a razão Ti/Nb é próxima de 1,02, 0,24 e 0,11, respectivamente. Para as ligas Nb50 e Nb90 as razões Ti/Nb dos recobrimentos orbitam bem próximas às razões Ti/Nb dos respectivos substratos. Já para a liga Nb80 os valores apresentam-se mais próximos nos recobrimentos das etapas oxidadas em eletrólito fosfórico. De maneira geral é possível perceber oscilações das razões Ti/Nb dos recobrimentos próximas ao valor das razões dos substratos das ligas. Ao passar das etapas há uma tendência de aumento da razão Ti/Nb nas etapas oxidadas em eletrólito de Ca e diminuição da razão Ti/Nb com a oxidação em ácido fosfórico.

Tabela 6. 1: Percentual atômico dos elementos presentes nos recobrimentos produzidos nas ligas 50Nb, 80Nb, 90Nb e no Nb identificados pela técnica de EDS.

|        | O          | P         | Ca         | Ti         | Nb          | Ti/Nb (% peso) do óxido | Ti/Nb (% peso) da liga |
|--------|------------|-----------|------------|------------|-------------|-------------------------|------------------------|
| Nb50-1 | 68,1 ± 0,2 | 5,5 ± 0,3 | -          | 18,2 ± 0,2 | 8,3 ± 0,2   | 1,1                     | 1,02                   |
| Nb50-2 | 64,1 ± 0,1 | 0,8 ± 0,1 | 9,1 ± 0,1  | 18,3 ± 0,1 | 7,68 ± 0,07 | 1,2                     | 1,02                   |
| Nb50-3 | 68,1 ± 0,3 | 5,0 ± 0,3 | 6,5 ± 0,2  | 13,3 ± 0,2 | 7,1 ± 0,2   | 0,97                    | 1,02                   |
| Nb50-4 | 65,9 ± 0,6 | 2,7 ± 0,7 | 9,5 ± 0,7  | 14,5 ± 0,5 | 7,4 ± 0,2   | 1,02                    | 1,02                   |
| Nb80-1 | 69,4 ± 0,1 | 6,8 ± 0,2 | -          | 7,4 ± 0,5  | 16,5 ± 0,4  | 0,23                    | 0,24                   |
| Nb80-2 | 65,2 ± 0,3 | 1,7 ± 0,3 | 8,6 ± 0,4  | 10,5 ± 0,3 | 13,5 ± 0,2  | 0,40                    | 0,24                   |
| Nb80-3 | 68,4 ± 0,3 | 5,0 ± 0,6 | 6,2 ± 0,3  | 7,4 ± 0,1  | 13,0 ± 0,1  | 0,29                    | 0,24                   |
| Nb80-4 | 65,9 ± 0,4 | 1,5 ± 0,4 | 10,0 ± 0,2 | 8,4 ± 0,3  | 14,0 ± 0,2  | 0,31                    | 0,24                   |
| Nb90-1 | 69,3 ± 0,2 | 7,0 ± 0,3 | -          | 5,1 ± 0,5  | 18,6 ± 0,6  | 0,10                    | 0,11                   |
| Nb90-2 | 66,7 ± 0,2 | 1,4 ± 0,1 | 8,5 ± 0,2  | 4,6 ± 0,9  | 18,7 ± 0,7  | 0,12                    | 0,11                   |
| Nb90-3 | 68,0 ± 0,1 | 4,5 ± 0,4 | 6,4 ± 0,2  | 3,2 ± 0,2  | 17,9 ± 0,3  | 0,09                    | 0,11                   |
| Nb90-4 | 66 ± 1     | 2 ± 2     | 6,2 ± 0,8  | 3,1 ± 0,2  | 18 ± 1      | 0,09                    | 0,11                   |
| Nb-1   | 71 ± 1     | 5,6 ± 0,3 | -          | -          | 24,7 ± 0,3  |                         |                        |
| Nb-2   | 67,9 ± 0,3 | 1,5 ± 0,5 | 8,5 ± 0,1  |            | 22,1 ± 0,6  |                         |                        |
| Nb-3   | 66,9 ± 0,9 | 6,3 ± 0,4 | 4,2 ± 0,2  |            | 22,79 ± 0,2 |                         |                        |
| Nb-4   | 65,6 ± 0,2 | 2,0 ± 0,3 | 8,6 ± 0,2  |            | 23,8 ± 0,2  |                         |                        |

## Viabilidade celular, molhabilidade e rugosidade Sa

Esta subseção relaciona testes de bioatividade *in vitro* (testes de viabilidade celular), ângulo de contato com gotas de água depositadas sobre as superfícies (molhabilidade), quantidade percentual dos elementos Ca e P e rugosidade superficial Sa. Essas características foram postas em comparação, pois como visto na revisão bibliográfica, elas são descritas como interdependentes. Foram analisadas somente as superfícies porosas e as ligas polidas e o Nb foram utilizados para comparação de viabilidade celular e molhabilidade.

A Figura 6.8 relaciona o teste de viabilidade celular (a), o ângulo de contato (molhabilidade) (b), percentual de cálcio e fósforo presente nas superfícies tratadas (c) e a rugosidade Sa (d). Foram analisadas as condições Nb50-2, Nb50-3, Nb50-4 e comparadas com a superfície polida da liga Nb50 (amostra controle). Em média os tratamentos superficiais melhoraram a resposta ao teste de viabilidade celular, sendo que a melhor resposta foi na Nb50-3, que apresentou uma melhora de 60% em comparação à Nb50 polida. A Nb50-3 teve seu último tratamento em eletrólito contendo íons de fósforo e como consequência apresentou-se mais hidrofílica. A condição Nb50-2 recebeu última oxidação em eletrólito com íons de Ca, apresentou a superfície com maior quantidade percentual de cálcio, mais hidrofóbica e em média apresentou o pior desempenho no teste de célula entre as superfícies tratadas. A amostra Nb50-4 em média apresentou o segundo melhor desempenho no teste de viabilidade celular, em média 35% superior à liga polida (apesar de ter sido tratada por último em eletrólito de Ca), demonstrando uma relação Ca/P semelhante à condição Nb50-3 e molhabilidade um pouco inferior a esta.

A rugosidade não apresentou grandes diferenças entre as diferentes etapas. As oxidações com eletrólito de Ca demonstraram uma rugosidade um pouco superior à superfície oxidada em ácido fosfórico. No entanto, não foi detectada uma relação direta entre a rugosidade, molhabilidade ou/e viabilidade celular entre as amostras oxidadas. Mas há uma diferença grande de rugosidade entre a liga polida e as superfícies oxidadas, ou seja, as amostras oxidadas possuem uma área superficial maior, o que poderia

acomodar um número maior de células. Esse fato poderia explicar a razão da Nb50-2 apresentar menor hidrofiliidade, mas ter uma maior viabilidade celular.

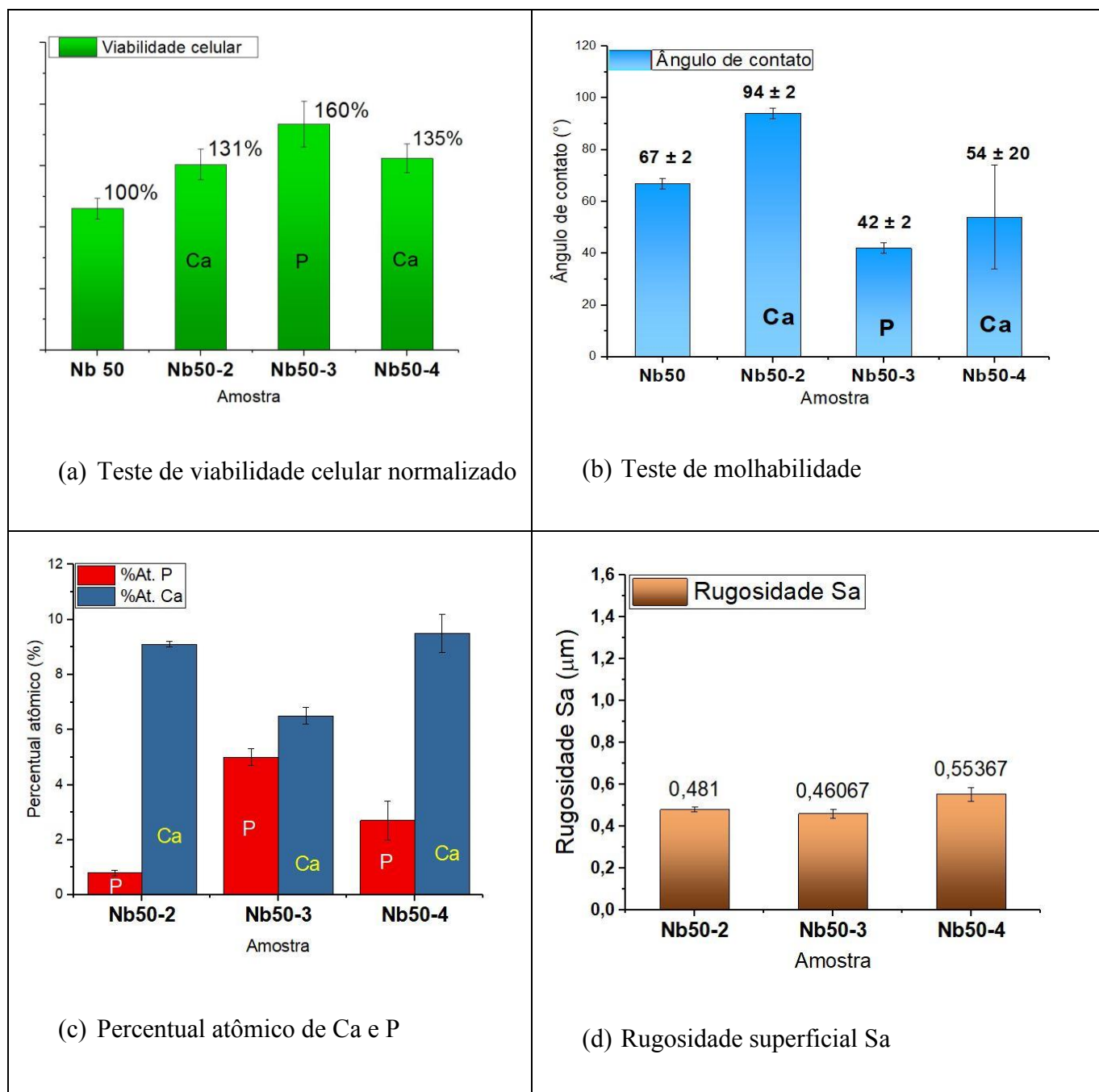


Figura 6. 8: Teste de viabilidade celular (a), teste de molhabilidade (b), percentual de Ca e P (c) e rugosidade Sa nas condições: Nb50 (liga polida), Nb50-2, Nb50-3 e Nb50-4. As siglas P e Ca em (a) e (b) estão relacionados com a natureza do eletrólito utilizado.



A Figura 6.9 relaciona o teste de viabilidade celular (a), o ângulo de contato (molhabilidade) (b), o percentual de cálcio e fósforo presente nas superfícies tratadas (c) e a rugosidade  $S_a$  (d) da liga com 80% de Nb tratadas por PEO em até 4 etapas. Foram analisadas as condições Nb80-2, Nb80-3, Nb80-4 e comparadas com a superfície polida da liga Nb80 (amostra controle =100%). Em média os tratamentos superficiais não influenciaram significativamente o teste de viabilidade celular. No entanto, o ângulo de contato com gotas de água apresentou significativo aumento em oxidações realizadas com eletrólito de cálcio em sua última etapa (Nb80-2 e Nb80-4) com maiores razões Ca/P e diminuição significativa do ângulo de contato e razão Ca/P na condição oxidada em eletrólito fosfórico (Nb80-3). Quanto a rugosidade, assim como na Nb50, aparentemente não apresentou relação direta com a viabilidade celular e com a molhabilidade. Amostra oxidadas em etapas com eletrólito de Ca (Nb80-2 e Nb80-4) apresentaram rugosidades maiores que a etapa que utilizou ácido fosfórico (Nb80-3). A condição Nb80-4 apresentou uma rugosidade maior que o dobro das amostras das etapas anteriores.

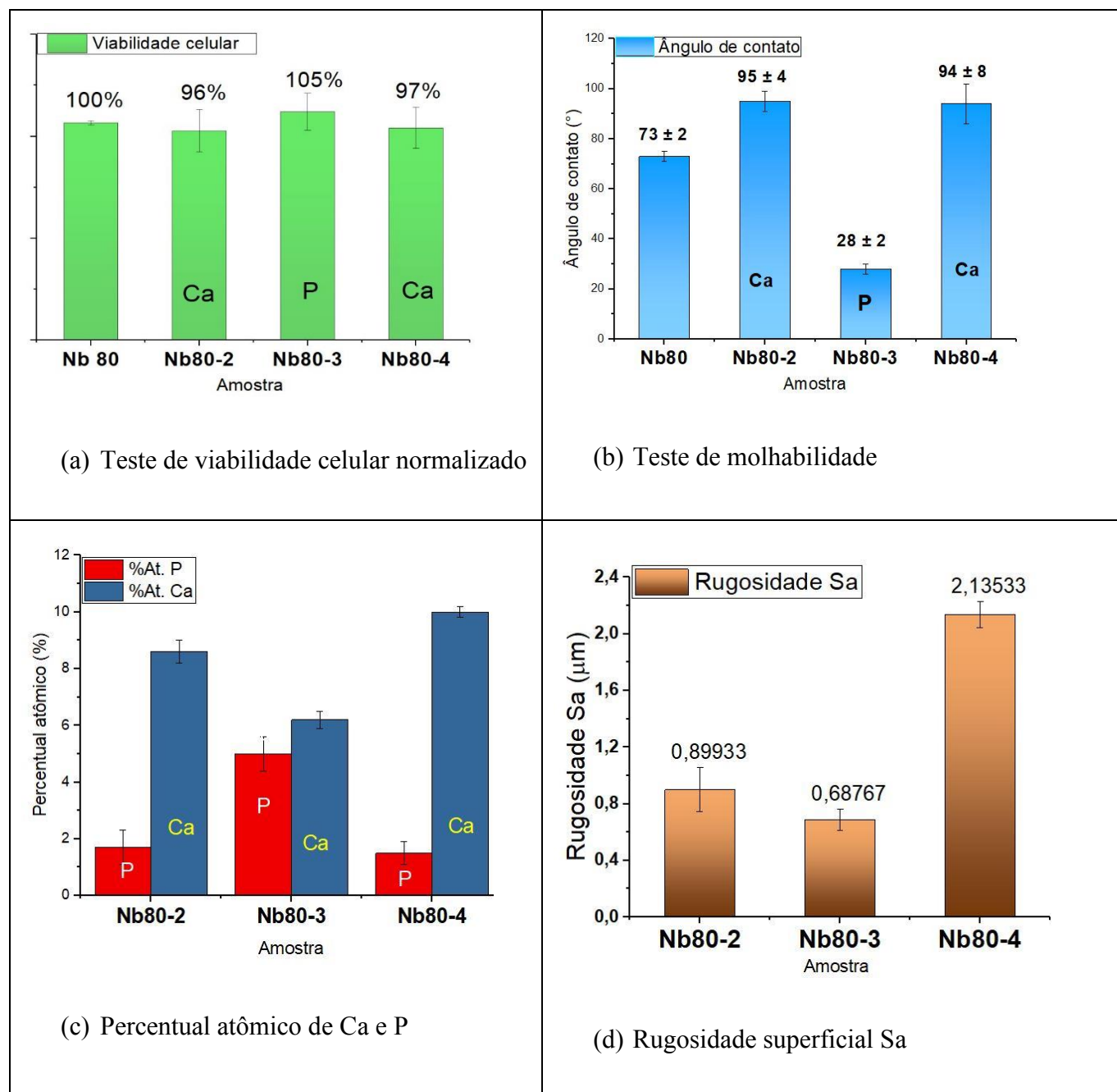


Figura 6. 9: Teste de viabilidade celular (a), teste de molhabilidade (b), percentual de Ca e P (c) e rugosidade Sa (d) nas condições: Nb80 (liga polida), Nb80-2, Nb80-3 e Nb80-4. As siglas P e Ca em (a) e (b) está relacionado com a natureza do eletrólito utilizado.

A Figura 6.10 relaciona o teste de viabilidade celular (a), o ângulo de contato (molhabilidade)(b), percentual de cálcio e fósforo presente nas superfícies tratadas (c) e a rugosidade superficial (d) da liga com 90% de Nb. Foram analisadas as condições Nb90-2, Nb90-3, Nb90-4 e comparadas com a superfície polida da liga Nb90. Em média os tratamentos superficiais influenciaram significativamente o teste de viabilidade celular de maneira positiva. A liga Nb90 polida foi tomada como referência para os testes de

viabilidade celular e molhabilidade. Houve uma melhora no teste de viabilidade celular em 64% após a oxidação na segunda etapa (Nb90-2), de 120% para a terceira etapa (Nb90-3) e de 87% para quarta (Nb90-4). As amostras mais hidrofílicas apresentaram em média melhores resultados nos testes com célula e novamente é observado a relação positiva entre a quantidade de fósforo no recobrimento e a hidrofilicidade. Quanto a rugosidade ela é levemente menor para amostra oxidada em eletrólito fosfórico.

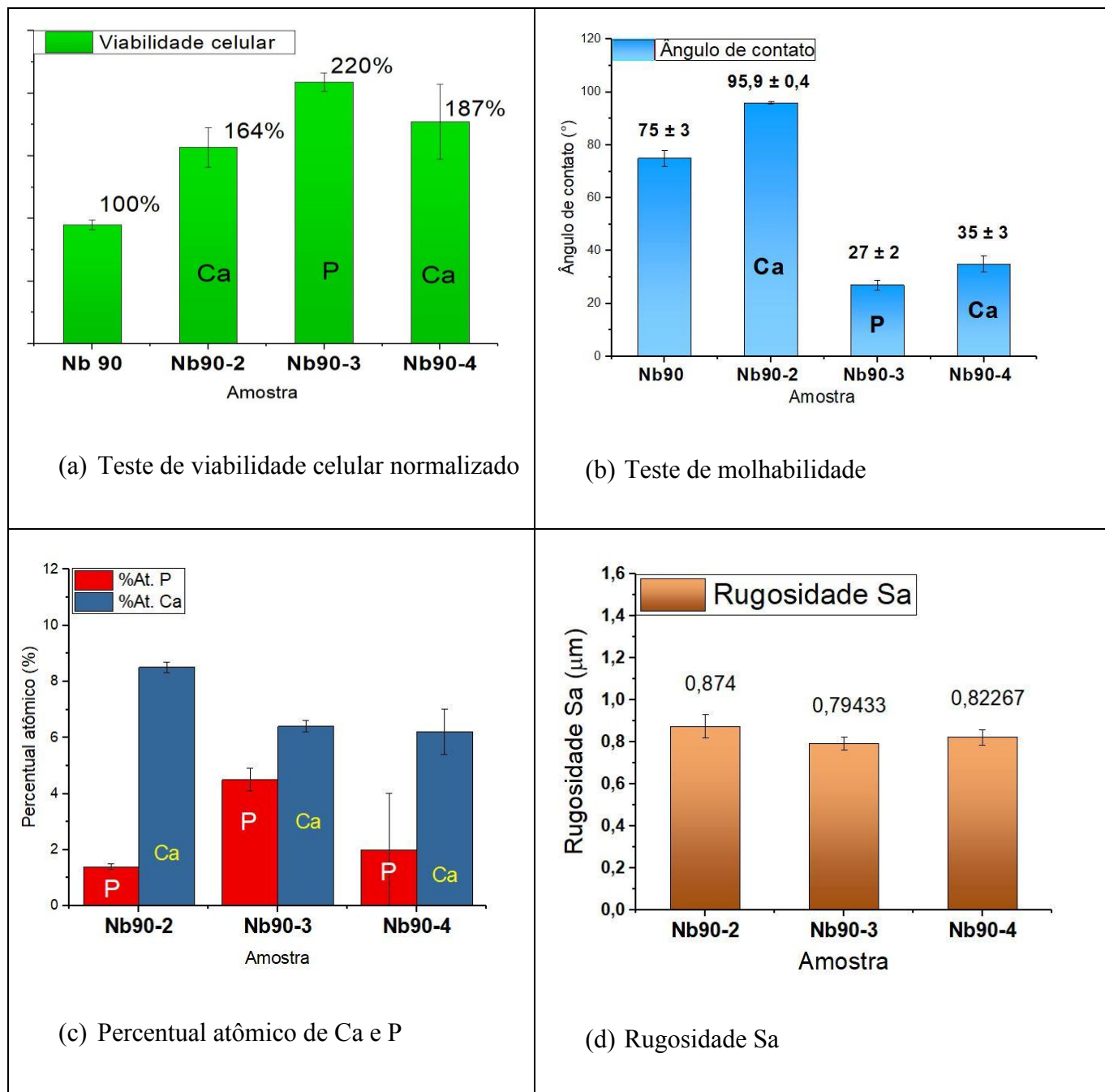


Figura 6. 10: Teste de viabilidade celular (a), teste de molhabilidade (b), percentual de Ca e P (c) e rugosidade superficial Sa (d) nas condições: Nb90 (liga polida), Nb90-2, Nb90-

3 e Nb90-4. As siglas P e Ca em (a) e (b) está relacionado com a natureza do eletrólito utilizado.

A Figura 6.11 relaciona o teste de viabilidade celular (a), o ângulo de contato (molhabilidade)(b), o percentual de cálcio e fósforo (c) e rugosidade (d) nas superfícies tratadas (c) e do nióbio. Foram analisadas as condições Nb-2, Nb-3, Nb-4 e comparadas com a superfície polida do nióbio. Em média os tratamentos superficiais influenciaram o teste de viabilidade celular de maneira positiva. O Nb polido foi tomado como referência para os testes de viabilidade celular e molhabilidade. Houve uma melhora no teste de viabilidade celular em 20% após a oxidação na segunda etapa (Nb-2), de 21% para a terceira etapa (Nb-3) e de 13% para quarta (Nb-4). A condição que apresentou maior hidrofiliabilidade, assim como para as ligas, foi a terceira etapa que é a que apresenta maior percentual de fósforo no recobrimento. Com relação à rugosidade superficial ela aumentou com o número de etapas.

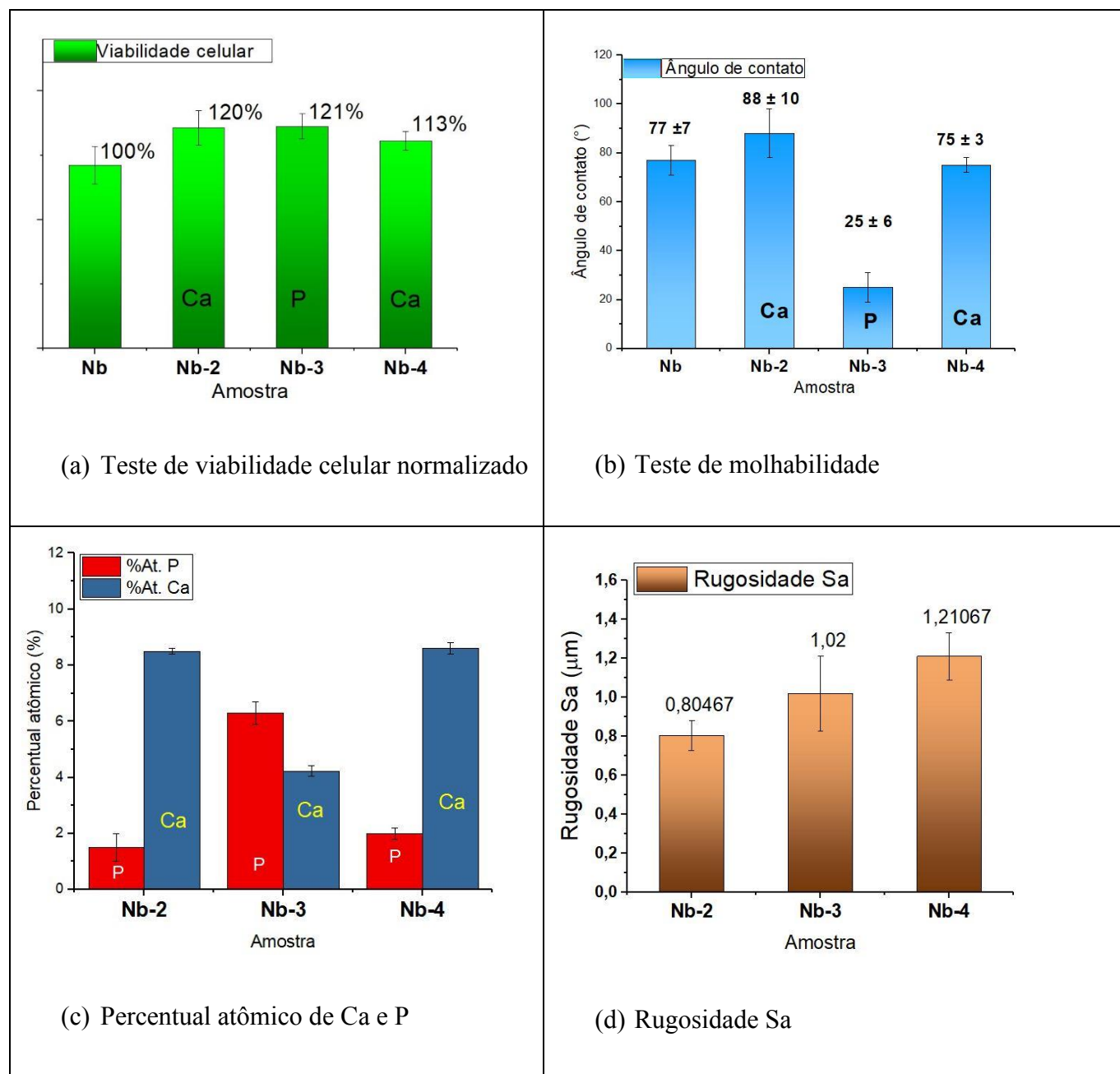


Figura 6. 11: Teste de viabilidade celular (a), teste de molhabilidade (b), percentual de Ca e P (c) e rugosidade superficial Sa (d) nas condições: Nb (liga polida), Nb-2, Nb-3 e Nb-4. As siglas P e Ca em (a) e (b) está relacionado com a natureza do eletrólito utilizado na etapa da oxidação.

## Propriedades mecânicas

As propriedades mecânicas como módulo de elasticidade  $E$  e a Dureza  $H$  foram avaliadas através da técnica de nanoindentação em todas as etapas de oxidação nas ligas e no Nb e comparadas com os seus respectivos substratos polidos. Os resultados do  $E$  e da  $H$  estão dispostos nas Fig. 6.12 e Fig. 6.13, respectivamente. Os valores estão em função da penetração da ponta na superfície analisada, sendo que a profundidade máxima é atingida concomitantemente com a carga máxima (500mN). A dispersão alta nos valores do  $E$  e do  $H$  no início das curvas das amostras oxidadas se deve ao efeito provocado por asperidades e porosidade, que causam erros na área de contato, e consequentemente interferem na barra de erro<sup>166</sup>.

É possível observar que para pequenas profundidades ( $< 0,1 \mu\text{m}$ ), a média do  $E$  das superfícies oxidadas é maior do que do substrato, no entanto o módulo cai rapidamente com aumento da profundidade para valores inferiores ao  $E$  dos respectivos substratos. Em média os valores das superfícies após a profundidade de  $0,5 \mu\text{m}$  apresentam o  $E \sim$  de 60 GPa, com exceção das pré-camadas formadas na Nb90 (25GPa) e no Nb (40GPa). Ou seja, houve significativa redução do  $E$  em relação ao valor do  $E$  dos substratos. Na profundidade de  $3 \mu\text{m}$  para a Nb50 (77GPa) a redução foi de  $\sim 21\%$  do módulo de elasticidade após as oxidações, para a Nb80 (94GPa) de  $36\%$ , para a Nb90 (95GPa) de  $37\%$  e para o Nb (99GPa) houve uma redução de  $\sim 40\%$  no módulo de elasticidade nas superfícies oxidadas.

Quanto à dureza das superfícies, para pequenas profundidades a  $H$  é maior que a do substrato e com aumento da profundidade tem seus valores diminuídos até convergirem para os valores dos seus respectivos substratos. No entanto, podem ser visualizadas exceções, como a Nb80-4 que demonstra uma dureza superior às outras condições e a Nb90-1 e Nb-1 apresentam significativamente dureza inferior. A dureza  $H$  e tenacidade alta, assim como boa adesão ao substrato estão relacionadas à resistência da superfície ao desgaste e a diminuição da formação de *debris* durante o funcionamento do implante<sup>167</sup>.

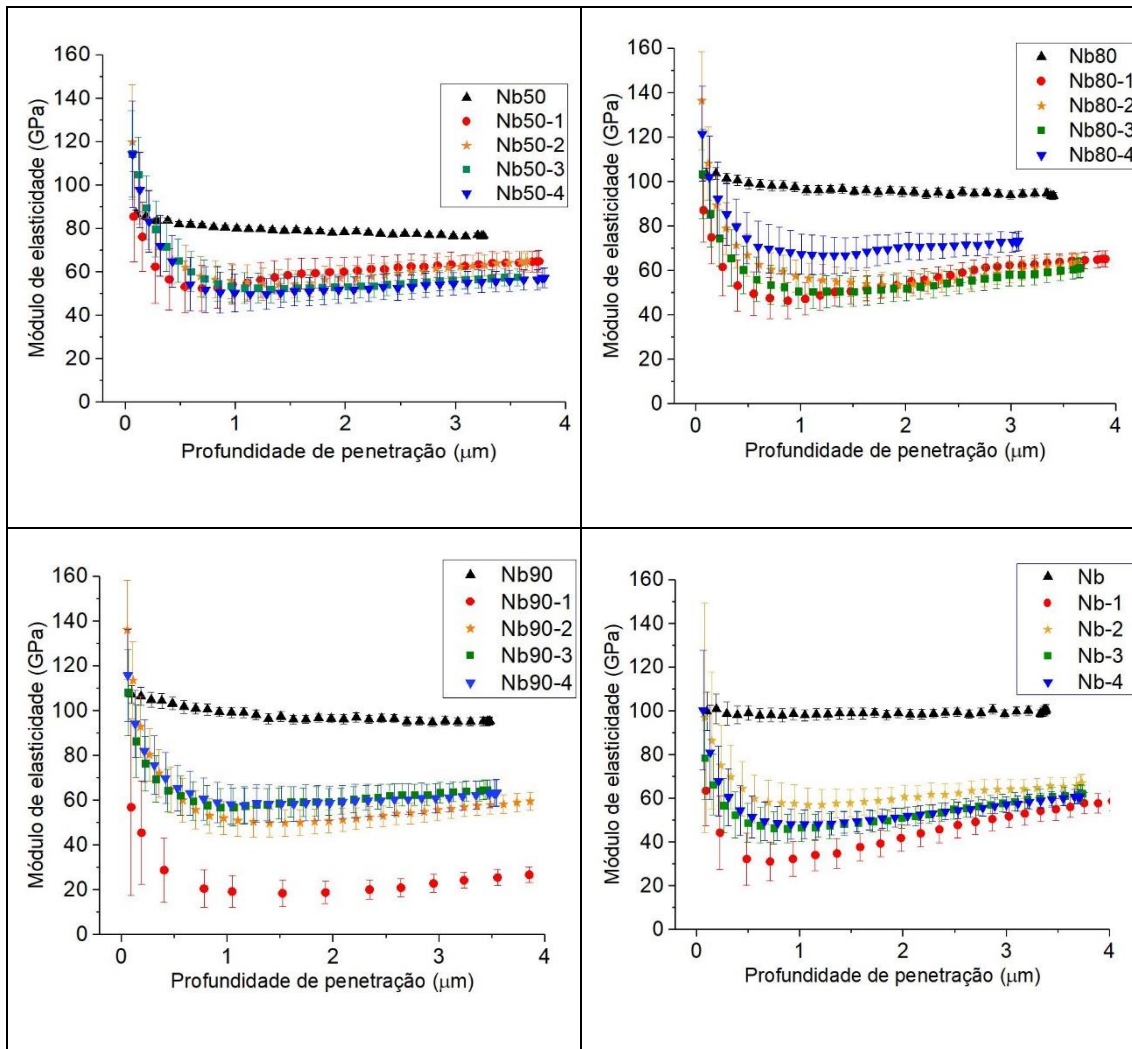


Figura 6. 12: Módulo de elasticidade  $E$  das amostras oxidadas nas etapas 1, 2, 3, 4 e da superfície polida das ligas e do Nb em função da profundidade de penetração do indentador.

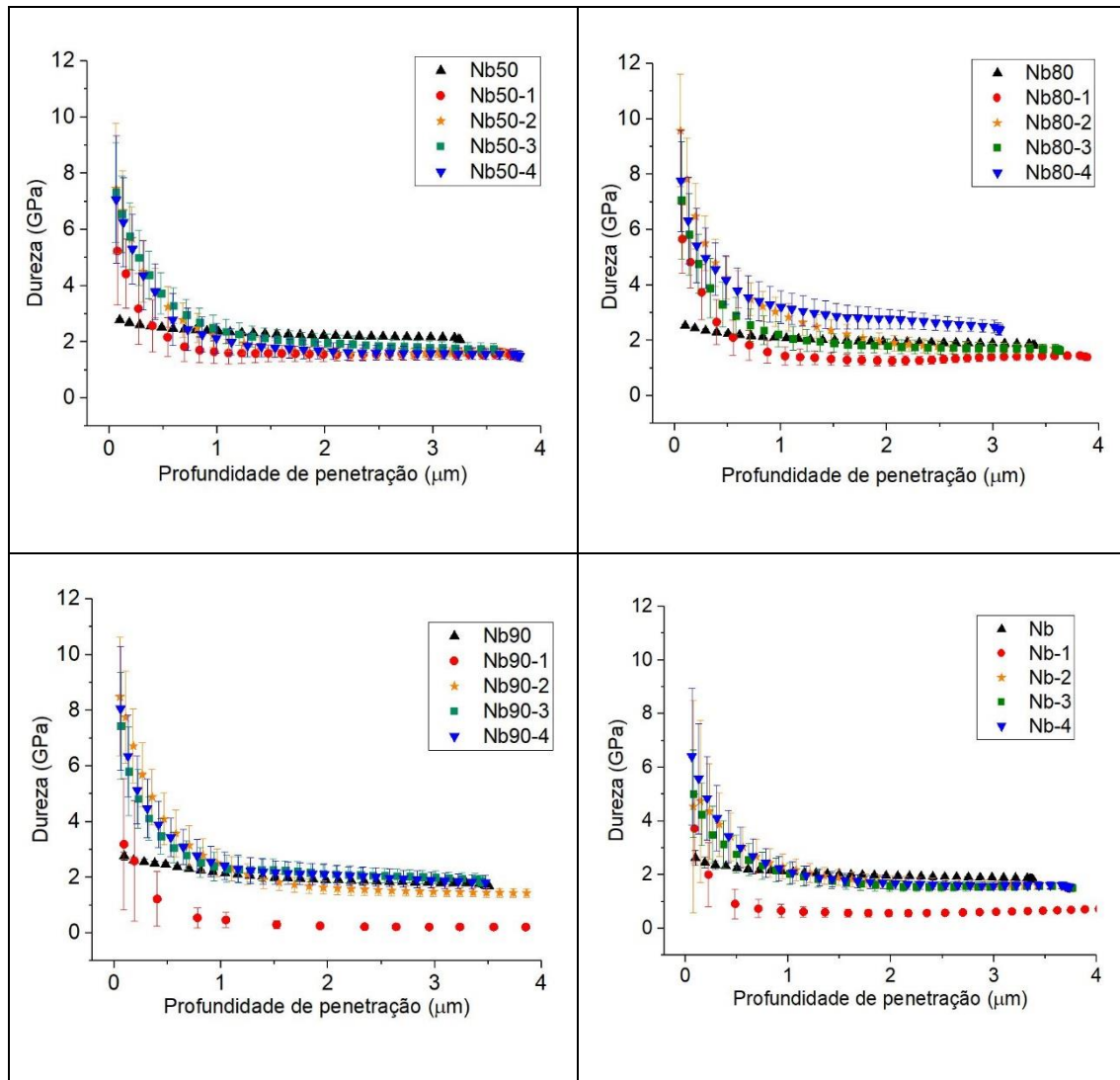


Figura 6. 13 Dureza H das amostras oxidadas nas etapas 1, 2, 3, 4 e da superfície polida das ligas e do Nb em função da profundidade de penetração do indentador.



## Difração de raios-X

Analisando a figura 6.14 observa-se os picos da amostra de referência, Nb e das ligas polidos. Os picos referem-se ao Nb e à fase  $\beta$  do titânio. Esses picos estão nomeados como Nb ou como substrato. A faixa de ângulo escolhida foi de  $15^\circ$  -  $65^\circ$  pois é onde se encontram os picos mais intensos dos óxidos e fosfatos cristalinos obtidos por PEO em Ti e Nb.

As oxidações em ácido fosfórico (Nb50-1, Nb80-1, Nb90-1, Nb-1) só apresentam a fase do metal do substrato, ou seja, o óxido formado é amorfo. O que está de acordo com trabalhos de Plasma Eletrolítico em titânio, ligas de titânio-níquel e nióbio<sup>67,80</sup>. Em trabalhos em liga Ni-Ti o grupo fosfato  $\text{PO}_4^{3-}$  é um forte estabilizador amorfo do óxido formado<sup>174</sup>. Em oxidações Ti6Al4V observou-se que maiores quantidades de íons fosfato no eletrólito utilizado estão relacionados com formação de óxidos amorfos<sup>175</sup>.

A segunda etapa, feita em eletrólito contendo cálcio, tem uma tendência à cristalização do recobrimento do óxido, mas as oxidações nas ligas Nb80 e Nb90 não apresentaram picos de óxido cristalino. Exceto nas oxidações feitas na primeira etapa, todas as amostras apresentaram um abaulamento na região do espectro de  $20^\circ$  a  $35^\circ$ , aproximadamente. Esse abaulamento é característico de pentóxido de nióbio amorfo<sup>176</sup>, mas nesse caso pode ser também fosfato de cálcio amorfo ou/e óxido de titânio amorfo. Nas oxidações feitas na liga Nb50 o abaulamento é pequeno em comparação às outras ligas.

As ligas Nb50 e Nb80 não apresentam pentóxido de nióbio cristalino. A Nb 90 possui picos após a segunda oxidação e o nióbio oxidado possui cristalinidade a partir da segunda oxidação. E os dados mostram uma tendência de aumentar a cristalinidade do pentóxido de nióbio com o aumento da quantidade de nióbio no substrato. Apesar de todas amostras oxidadas possuírem dióxido de titânio, somente a liga Nb50 apresentou dióxido de titânio cristalino na fase anatase.

Comparando os padrões do PDF2 (base de dados) com os óxidos cristalinos encontrados na Nb50 temos que é o dióxido de titânio correspondente ao anatase. Quanto ao pentóxido de nióbio a análise se torna um pouco mais complicada, pois picos de óxidos com estruturas cristalinas diferentes são muito próximos. Esses picos em  $22.64^\circ$ ,  $28.68^\circ$ ,

36.78°, 46.2° foram identificados como Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> com estrutura cristalina hexagonal, no entanto podem representar outras fases de pentóxido de nióbio como ortorrômbico ou até monoclinico, pois são picos que coincidem com os picos do difratograma. No difratograma os picos de óxido foram identificados como “O”. Como os picos dos óxidos são largos é muito provável que o que de fato exista é a coexistência das 3 fases cristalinas (hexagonal, monoclinica e ortorrômbica).

Há também nas amostras Nb-3 e Nb-4 picos referentes a fosfatos de cálcio nomeados como CaP. É difícil precisar qual é ou quais são os fosfatos exatos, pois existe uma quantidade grande de diferentes padrões de DRX de picos de fosfatos que possuem mesmos ângulos que os das amostras Nb-3 e Nb-4.

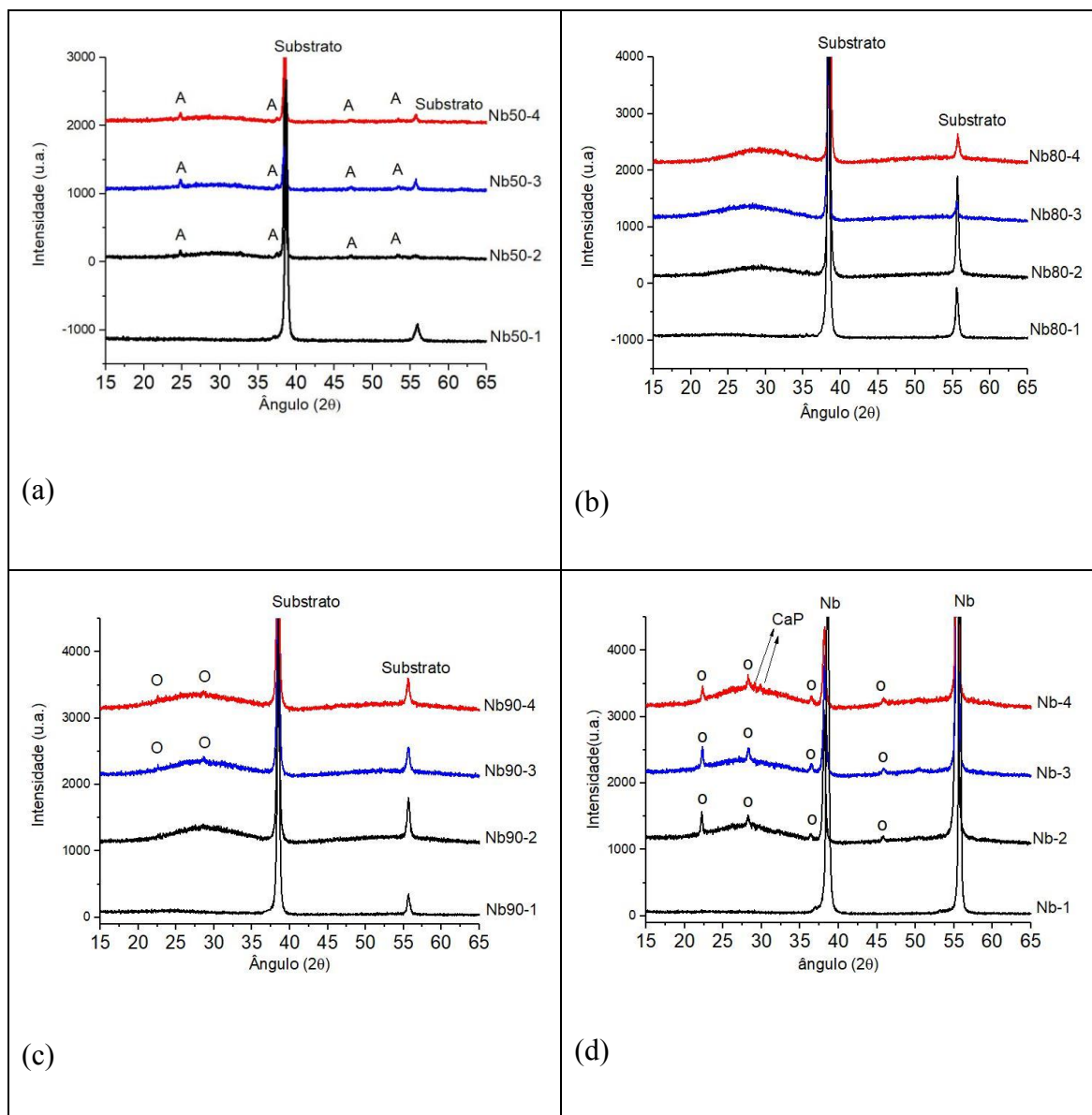


Figura 6. 14: Difratoograma de raios - X das amostras oxidadas da liga Nb50 (a), Nb80 (b), Nb90 (c) e Nb (d). O óxido de Ti anatase está representado pela letra “A”, o pentóxido de nióbio cristalino pela letra “O” e o fosfato de cálcio cristalino por “CaP”.

#### Discussão a respeito do plasma eletrolítico sobre o Nb e as Ligas

As oxidações alternando-se os eletrólitos entre cálcio e fósforo não apresentaram diferenças significativas nas morfologias e as porosidades como pode ser observado entre as superfícies produzidas pelas diferentes etapas nos diferentes substratos. No entanto, existe uma tendência de que com o avanço das etapas a dispersão do tamanho dos poros aumente. A dispersão dos tamanhos de poros é positiva para aplicação em superfícies de

biomateriais, pois durante o processo de osseointegração existe múltiplas interações, onde por exemplo algumas superfícies apresentam melhores respostas com células e outras permitem o crescimento ósseo dentro dos poros. O próprio tecido ósseo apresenta uma escala de tamanho de poros que varia de milímetros a nanômetros<sup>162</sup>. Em titania, poros na faixa de 30-100 nm apresentaram em nanotubos a melhor resposta em testes com células<sup>163</sup>. Já poros micrométricos (40-280µm) de fosfato de cálcio demonstraram vascularização depois de implantados por 28 dias. A vascularização tendeu a ser menor em poros menores no entanto a estabilidade mecânica mostrou-se maior superfícies com poros menores<sup>164</sup>.

As oxidações nas diversas etapas apresentaram em geral uma significativa melhora da performance em testes de viabilidade celular quando comparadas com a superfície das respectivas ligas polidas (exceto para a liga Nb80). Para cada liga e para o Nb, as melhores respostas ao teste com célula e as superfícies mais hidrofílicas, foram observadas nas amostras oxidadas na terceira etapa. Ou seja, a quantidade de fósforo mostrou-se diretamente relacionada com a hidrofilicidade e com o grau de bioatividade na superfície. Superfícies tratadas por plasma eletrolítico em ácido fosfórico normalmente apresentam-se hidrofílicas pois formam superfícies contendo fosfatos<sup>80,92</sup>. A razão principal é que o grupo fosfato apresenta características polares e superfícies contendo grupos polares apresentam comportamento hidrofílico<sup>102,159</sup>. Para a aplicação em implantes osseointegráveis a superfície do implante, entre outras características, deve ser projetada para ter uma boa interação com o sangue, provocando a adesão e o crescimento superficial de células<sup>165</sup>.

As oxidações realizadas com eletrólito de Ca produziram superfícies com razão Ca/P maiores (etapas 2 e 4). Essas oxidações produziram em geral superfícies mais hidrofóbicas quando comparadas aos respectivos substratos. No entanto, houveram melhores performances nos testes de viabilidade em relação aos substratos (com exceção das oxidações produzidas na Nb80). Apesar de existir uma relação direta entre hidrofilicidade e adesão celular, os substratos polidos que eram mais hidrofílicos, apresentaram um desempenho inferior nos testes de viabilidade celular. Uma possível explicação seria a rugosidade muito superior das amostras oxidadas em comparação aos substratos polidos, pois possuem maiores áreas de contato, o que possibilita um maior

espaço para alocar as células. No entanto, não foi possível identificar uma relação entre a hidrofilicidade e teste de células com a rugosidade entre as amostras oxidadas.

Os resultados de nanoindentação demonstraram que houve uma redução considerável no módulo de elasticidade das ligas e do Nb após a oxidações sobre os substratos. Os óxidos de Nb e de Ti possuem valores de 134 GPa<sup>168</sup> e 230 GPa<sup>169</sup> respectivamente quando compactos, no entanto quando apresentam porosidade o comportamento mecânico é alterado e se assemelha uma espécie de compósito formado de óxido e poros<sup>170</sup>. A porosidade provocou reduções no módulo de elasticidade. As reduções convergiram para valores próximos a 60GPa, tanto para Nb50 que apresenta módulo de elasticidade igual a 77GPa quanto para as outras ligas e para Nb que apresentam  $E > 92$  GPa. Comparando com os dados da literatura, em oxidações OPE realizadas uma liga Ti-25Nb-25Ta que possui  $E$  igual a 70 GPa também foi reportado um módulo de elasticidade próximo a 60GPa<sup>171</sup>. A primeira vista este não é um resultado esperado, pois as respostas elásticas durante a endentação devem vir do conjunto substrato + recobrimento<sup>172</sup>, não sendo possível desvincula-los por menor que seja a força aplicada<sup>173</sup>. Ou seja, se o substrato apresenta um menor  $E$ , a resposta do conjunto substrato + recobrimento deveria ser provavelmente menor. Uma possível explicação para o  $E$  aproximadamente constante reside na composição dos óxidos que seguem aproximadamente as proporções das suas respectivas ligas. Por exemplo a liga Nb50 possui uma razão Ti/Nb próxima de 1 e seus recobrimentos formaram óxidos com razão Ti/Nb próxima de 1. Apesar da liga Nb50 apresentar 77 GPa (menor valor entre os substratos), ela possui uma quantidade maior de óxido de Ti que possui um valor de  $E$  quase duas vezes maior que o óxido de Nb. Ou seja, o valor do substrato cai com o aumento do percentual do Ti mas em contrapartida o valor de  $E$  dos óxidos aumenta com o aumento do percentual do Ti. Outro ponto favorável a este argumento é comportamento das curvas dos recobrimentos feitos na liga Nb80. Esta liga apresentou uma dispersão maior nas razões Ti/Nb entre as etapas e como provável consequência também nos seus valores das propriedades mecânicas.

Os metais e as ligas utilizados como material base para confecção de implantes osseointegráveis frequentemente exibem módulo de elasticidade superior ao tecido ósseo. A diferença de módulo provoca um efeito conhecido como *stress shielding*<sup>9</sup>. Esse efeito pode ser entendido como uma atrofia causada pela diminuição de cargas mecânicas sobre

o tecido ósseo na interface implante/osso. Essa diminuição das cargas se deve à sua distribuição desigual entre o implante e o tecido ósseo. Em outras palavras o implante (maior E) fica com a maior parcela da carga e o osso com a menor devido ao seu menor E. Como resposta, no decorrer do tempo a alteração local das cargas pode provocar processos de remodelação óssea e consequentemente a perda de massa óssea ao redor do implante. Com isso a estabilidade mecânica é perdida e a funcionalidade do implante também. Diminuir a diferença interfacial de módulo de elasticidade diminui também a diferença da distribuição das cargas mecânicas. No caso da oxidação por plasma eletrolítico, cria-se uma zona de acomodação mecânica através da presença do óxido poroso com um módulo de elasticidade inferior ao do substrato, o que pode contribuir positivamente para evitar a perda de massa óssea.

O  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  confere resistência à corrosão, melhor biocompatibilidade ao nióbio e quando obtido por tratamentos via sol-gel recobrindo aço inox apresenta boa bioatividade. Eisenbarth et al. (2006) e Ochsenein et al. (2008) obtiveram boa compatibilidade biológica também através de recobrimento sol-gel de pentóxido de nióbio sobre o titânio comercialmente puro de grau 2<sup>177,178</sup>. Karlinsey et al.(2006) em trabalhos com anodização, propuseram que a bioatividade em nióbio, depende da cristalinidade do  $\text{Nb}_2\text{O}_5$ , sugerindo uma influência epitaxial da cristalinidade do pentóxido sobre a nucleação de hidroxiapatita<sup>179</sup>. Quanto ao  $\text{TiO}_2$  cristalino (anatase), é bastante conhecido por favorecer a formação de hidroxiapatita, sendo um indicativo de bioatividade<sup>180</sup>. Dos substratos analisados, o único que praticamente não apresentou melhora no teste de bioatividade com células foi a liga que não apresentou nenhum pico cristalino (Nb80). Chen e colaboradores, produziram superfícies em Ti através do PEO em Ti em soluções com ácido fosfórico<sup>6</sup>. Os recobrimentos com anatase tiveram piores resultados em teste com células em relação ao recobrimento amorfo. Nesse caso o recobrimento amorfo era nano-estruturado o que favoreceu a adesão de células ósseas. Sabe-se que a cristalinidade dos óxidos afeta positivamente o resultado de bioatividade *in vitro* em simulador de fluido corpóreo e aparentemente os resultados apresentados podem indicar uma influência positiva sobre a bioatividade *in vitro* de células ósseas.

### Conclusão a respeito do plasma eletrolítico sobre o Nb e as Ligas

O nióbio e ligas de Ti  $\beta$  binárias compostas por Ti e Nb ( $Ti_xNb$ ,  $x = 50, 80, 90$  % em peso) foram tratadas pelo processo de oxidação por plasma eletrolítico em 4 etapas. Para cada etapa foi alternado o eletrólito entre eletrólito contendo íons fosfato e eletrólito contendo íons de Ca. A primeira etapa consistiu da formação de uma pré-camada que serviu como base para as oxidações subsequentes que produziram recobrimentos porosos aderidos. Apesar da composição diferenciadas dos substratos metálicos, os recobrimentos apresentaram poucas diferenças morfológicas entre si e com o passar das etapas a dispersão dos tamanhos de poros aumentou. A composição química dos recobrimentos porosos é composta por oxigênio, cálcio, fósforo e pelos respectivos elementos do substrato metálico. Em geral, os recobrimentos nas ligas seguiram próximos a razão Ti/Nb de suas respectivas ligas.

Os recobrimentos oxidados em etapas contendo eletrólito fosfórico apresentaram-se mais hidrofílicos e com os melhores resultados nos testes de viabilidade celular. Já os oxidados em etapas contendo eletrólito Ca apresentaram mais hidrofóbicos em relação aos respectivos substratos, no entanto, apresentaram melhores respostas nos testes com células em relação aos respectivos substratos.

Os recobrimentos apresentaram cristalinidade com picos de dióxido de titânio (anatase) nos recobrimentos da liga Nb50 e picos de pentóxido de nióbio nos recobrimentos das ligas Nb90 e do Nb que são indicativos de bioatividade. O Nb foi o único apresentou picos de fosfato de cálcio. A única liga que não apresentou cristalinidade no recobrimento foi a Nb80 que também foi a única liga que não demonstrou melhora na bioatividade em testes de célula.

As propriedades mecânicas como módulo de elasticidade E e dureza foram avaliadas por nanoindentação. O módulo de elasticidade dos substratos com recobrimentos apresentou valores significativamente mais adequados para aplicação em biomateriais que os substratos. Apesar dos valores de módulo de elasticidade do substrato

serem diferentes, os valores do módulo de elasticidade dos recobrimentos permaneceram aproximadamente constantes. Isso pode ser devido à razão percentual de Ti/Nb dos óxidos no recobrimento, pois apesar de razões maiores no substrato diminuem o valor de E, no entanto, nos óxidos podem provocar aumento. Quanto a dureza, ela é aumentada para pequenas penetrações no recobrimento e tendem aos valores dos substratos conforme a ponta do nanoindentador aprofunda.

A características superficiais obtidas em substrato de nióbio e nas ligas binárias  $Ti_xNb$  como rugosidade, porosidade, aderência, composição química favorável, cristalinidade, propriedades mecânicas e bioatividade melhorada como demonstrado, podem potencialmente aprimorar a interação do implante com o meio biológico, acelerar o processo de aceitação pelo organismo e promover prolongamento na vida útil durante o tempo de utilização do implante.

## 7 Conclusão

As ligas de  $Ti_xNb$  ( $x=50, 80, \text{ e } 90\%$  em peso) confeccionadas apresentaram estrutura cristalina cúbica, quando comparadas ao titânio comercialmente puro. As ligas apresentaram resistência a corrosão superior, melhor performance em testes de viabilidade celular e módulo de elasticidade consideravelmente mais baixo. Entre os substratos analisados a liga com 50% de Nb apresentou os melhores resultados: menor taxa de corrosão, maior hidrofilicidade, melhor bioatividade e módulo de elasticidade consideravelmente mais próximo ao valor conhecido para o tecido ósseo.

Após analisadas as características dos substratos das ligas e o nióbio, esses materiais metálicos foram submetidos a um processo de modificação superficial para potencializar a interação com o meio corpóreo. A modificação superficial empregada foi a oxidação por plasma eletrolítico em até quatro etapas. As etapas foram realizadas alternando-se os eletrólitos entre soluções com íons fosfato (primeira e terceira etapas) e soluções com íons de cálcio (segunda e quarta etapas). Após a oxidação na primeira etapa (eletrólito com íons fosfato) observou-se uma morfologia com esferoides nas superfícies. Os recobrimentos formados nas três etapas subsequentes mostraram-se porosos e com composição química contendo os elementos cálcio e fósforo e razão Ti/Nb próximo dos valores das respectivas ligas. As oxidações, de maneira geral, reduziram o módulo de elasticidade para valores de aproximadamente 60 GPa e melhoraram a viabilidade celular



das superfícies. Entre as etapas de oxidação, destaca-se as realizadas em eletrólito com íons fosfato realizada em três etapas que se apresentaram consideravelmente mais hidrofílicas e com melhores performances em teste de bioatividade. Os resultados indicam que as ligas apresentam um grande potencial para a aplicação como biomaterial e através do tratamento com plasma eletrolítico em etapas é possível obter superfícies com características mais adequadas para a aplicação em dispositivos implantáveis.

## 8 Anexo

### Corrosão - polarização potenciodinâmica

Esta é uma técnica utilizada para a mensuração da taxa de corrosão para a avaliação de materiais. Existem conceitos eletroquímicos muito mais profundos a cerca deste assunto, no entanto será abordado a seguir uma forma mais prática e bem direcionada que permitem avaliar a corrosão através da análise das curvas de Tafel.

Basicamente essa técnica tem embasamento na teoria de potencial misto. Essa teoria relaciona a reação anódica (oxidação) e a catódica (redução) afirmando que ambas acontecem simultaneamente. Como uma corrente de cargas é gerada no processo, ela pode ser representada em relação um eletrodo de referência como a diferença  $i$  entre a corrente catódica  $i_c$  e a corrente anódica  $i_a$  como representada na eq. 8.1.

$$i = i_c - i_a \quad (eq. 8.1)$$

Como uma determinada constante área é exposta pela amostra, para que o resultado da passagem de corrente  $i$  possa ser comparado com outros materiais, a representação deve ser feita por uma densidade de corrente eq.8.2

$$J = \frac{i}{A} \quad (eq. 8.2)$$

Onde:

$J$  = densidade de corrente [A/mm]

$i$  = corrente resultante [A]

$A$  = área exposta pela amostra [mm]

No caso da técnica de medida de corrosão através da técnica de Polarização Potenciodinâmica é feito uma aplicação por uma fonte externa de uma diferença de potencial elétrico  $E$  dentro de uma faixa, como consequência haverá uma resposta na passagem de corrente  $i$ . A figura 8.1 mostra a  $E \times i$ . A figura também destaca uma região linear na curva, ou seja, onde o sistema apresenta um comportamento ôhmico. A partir da região com comportamento ôhmico pode-se obter uma resistência de maneira direta.

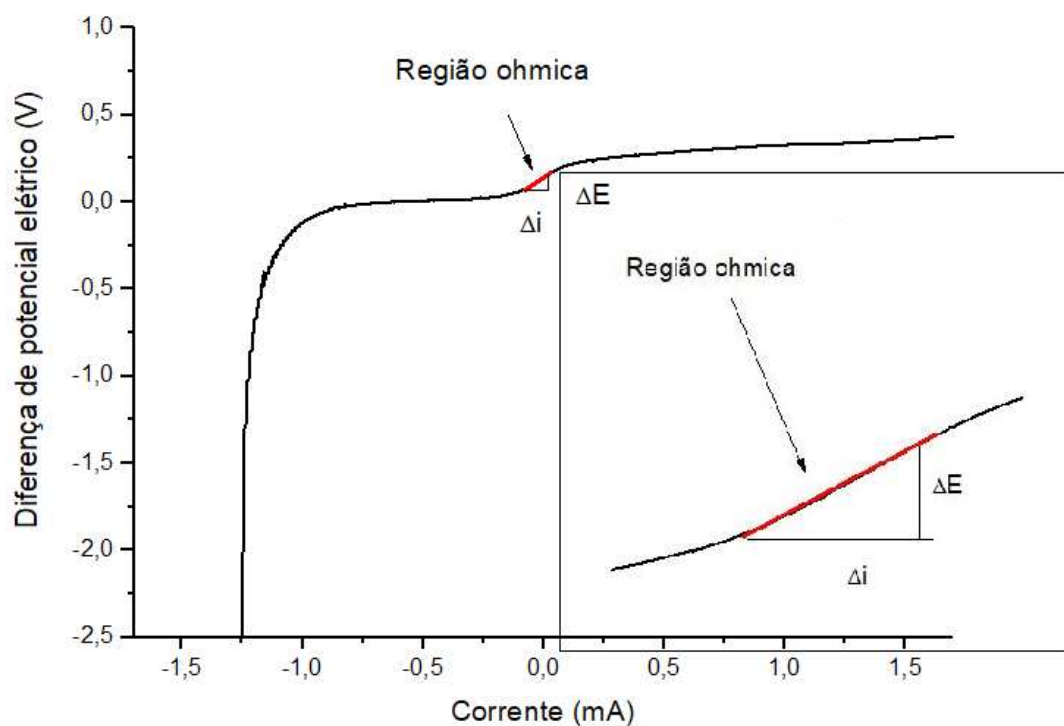


Figura 8. 1: Curva da diferença de potencial elétrico em função da corrente  $i$  para o titânio.

Neste caso a resistência obtida é conhecida por resistência à polarização (eq. 8.3)

$$R_p = \frac{\Delta E}{\Delta i} \text{ (eq. 8.3)}$$

$R_p$  = resistência à polarização [ $\Omega$ ];

$\Delta E$  = diferença de potencial elétrico na região ôhmica[V];

$\Delta i$  = diferença de corrente na região ôhmica [i];

Dentro dessa região é possível observar uma relação inversamente proporcional entre corrente e resistência à polarização, no entanto fora dessa região essa relação prontamente inversa não pode ser aplicada. A resistência a polarização  $R_p$  maior pode ser um indicativo de resistência à corrosão maior também. Mas como o cálculo de taxa de corrosão é feito fora da região ôhmica, nem sempre a maior  $R_p$  apresentará a menor taxa de corrosão.

Para a construção da curva de Tafel é necessário fazer uma alteração na representação da corrente  $i$ . A corrente  $i$  deve ser representada pelo  $\log |i|$  e curva da figura 8.1 assume o formato da curva da figura 8.2. Por esta curva é possível perceber que quanto mais a esquerda menor é o valor do módulo da corrente. O potencial de corrosão  $E_{\text{corr}}$  representa o ponto de mínima passagem de corrente que é o pico apontado para a esquerda. Quanto mais positivo o  $E_{\text{corr}}$ , maior sua nobreza e quanto maior sua nobreza menor sua reatividade e conseqüentemente sua corrosão (lembrando que para metais como o titânio, nióbio, alumínio e tântalo sua proteção à corrosão é diferente, ela é provida pela barreira de óxido superficial)<sup>158</sup>. Traçando linhas sobre as regiões lineares da curva (linha azul e vermelha) pode-se obter os seguintes parâmetros:

- $i_{\text{corr}}$  = corrente de corrosão [A], é encontrado no ponto de intersecção das linhas azul e vermelha. Lembrando que o valor está em escala logarítmica e precisa ser reconvertido.
- $b_a$  = inclinação de Tafel anódica, quando o eixo x está o logaritmo na base 10 [Volts / década]<sup>156</sup>. Pode ser obtida através do ângulo  $\alpha$  como mostra a eq. 8.3:  

$$b_a = \tan \alpha \quad (\text{eq. 8.3})$$
- $b_c$  = inclinação de Tafel catódica, quando o eixo x está o logaritmo na base 10 [Volts / década]<sup>156</sup>. Pode ser obtida através do ângulo  $\beta$ .

Os valores de  $i_{\text{corr}}$ ,  $b_a$ ,  $b_c$ ,  $E_{\text{corr}}$  e  $R_p$  normalmente são fornecidos pelo aparato experimental que faz a análise potenciodinâmica.

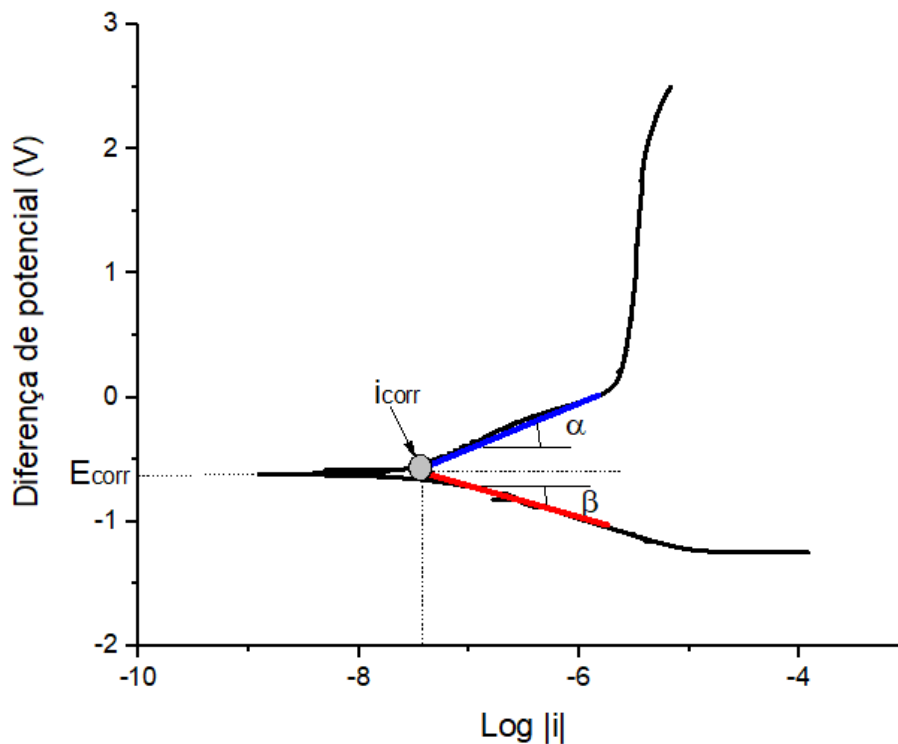


Figura 8. 2: Curva de Tafel para os resultados da análise de polarização potenciodinâmica do titânio.

#### Cálculo do peso equivalente EW

Para ligas metálicas, é possível obter a taxa de corrosão através da utilização da eq. 5.2. Mas para que o cálculo seja executado é necessário saber o peso equivalente EW (*equivalente weight*) da liga. A tabela 8.1 apresenta as variáveis e os valores calculados para as ligas Nb50, Nb80 e Nb90. Utilizando a eq. 8.4 e aplicando-se os valores da tabela 8.1, calculou-se os valores do peso equivalente<sup>156,157</sup>:

$$EW = \frac{1}{\sum_i \frac{n_i \cdot f_i}{M_i}} \quad (eq. 8.4)$$

Onde

$n_i$  = valência do  $i$ ésimo elemento da liga;

$f_i$  = fração da massa do elemento

$M_i$  = peso atômico

Tabela 8. 1: Parâmetros para o cálculo do peso equivalente e valores calculados do peso equivalente para o Ti, Nb e ligas TiNb.

| Substrato | $n_i$ | $M_i$ [g.mol <sup>-1</sup> ] | $f_i$ |     | EW     |
|-----------|-------|------------------------------|-------|-----|--------|
|           |       |                              | Ti    | Nb  |        |
| Titânio   | 4     | 47,9                         | 1     |     | 11,975 |
| Nióbio    | 5     | 92,91                        |       | 1   | 18,582 |
| Nb50      |       |                              | 0,5   | 0,5 | 14,56  |
| Nb80      |       |                              | 0,2   | 0,8 | 16,73  |
| Nb90      |       |                              | 0,1   | 0,9 | 17,61  |

Exemplo do cálculo do peso equivalente para a Nb80:

$$Ew = \frac{1}{\frac{4 \cdot 0,2}{47,9} + \frac{5 \cdot 0,5}{92,91}} = 16,73$$

### Molhabilidade

A molhabilidade pode ser entendida como a tendência de um líquido aderir ou espalhar sobre uma superfície sólida<sup>181</sup>. No caso desta tese o líquido utilizado foi a água, no entanto líquidos apolares como óleo também podem ser utilizados. Avaliando-se o ângulo de contato de uma gota do fluido com a superfície é possível determinar a partir de um certo limite se a superfície é hidrofílica ou hidrofóbica. Se ângulo de contato for

maior que  $90^\circ$  a superfície é considerada hidrofóbica se é inferior é hidrofílica<sup>106</sup> como pode ser observado na figura 8.3.

O teste de molhabilidade pode ser conduzido de formas variadas, mas o mais frequente é a técnica da gota séssil. Esta técnica versa sobre colocar em contato um material de menor ponto de fusão sobre o com maior (superfície a ser analisada) e aquece-lo até a fusão do material de menor ponto de fusão<sup>106</sup>. A técnica utiliza neste trabalho é uma variação desta técnica.

A variação consistiu em depositar uma gota sobre a superfície da amostra a ser analisada, utilizando um volume de água constante de gota, mesmo tempo de interação líquido-superfície, temperatura constante evitando-se o prévio contato entre o líquido e a superfície. O ângulo de contato  $\theta$  é (como representado na figura 8.3), é obtido por uma reta tangente à gota, que parte da superfície de um ponto onde a gota toca a superfície. Outras propriedades como energia de superfície podem ser quantificadas através de técnicas de medidas feitas do ângulo de contato  $\theta$ .

Os molhamentos podem ser físicos ou químicos. Nos molhamentos físicos, que tem como exemplo este estudo, é caracterizado pela dissociação parcial ou completa das ligações entre os átomos das superfícies do sólido após o contato com o fluido<sup>106</sup>. Não existe o transporte de massa entre as duas fases ou reação química, a força atrativa que produz o molhamento é uma interação física que apresenta reversibilidade<sup>106</sup>. Já o molhamento químico, reações químicas ocorrem quando da interação entre a superfície e o fluido.

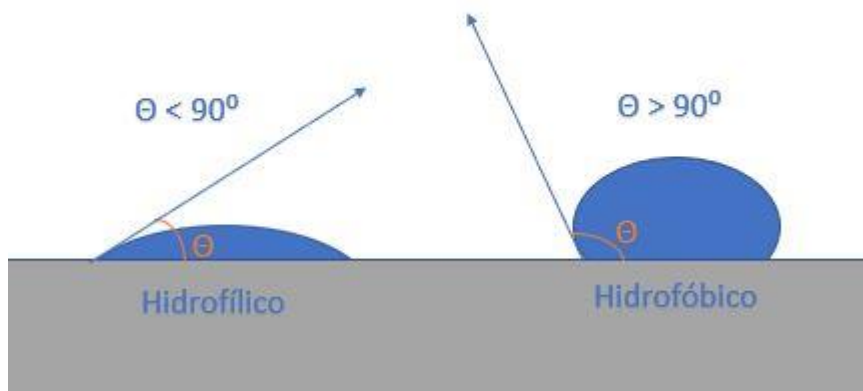


Figura 8. 3: Representação de uma superfície hidrofílica e outra hidrofóbica.

### Nanoindentação

A Nanoindentação é o teste de endentação em escala nanométrica<sup>173,182</sup>. A análise consiste em penetrar uma ponta de diamante no material, controlando e registrando a carga e a profundidade de penetração que é feita em escala nanométrica. Os resultados obtidos são colocados num diagrama força-deslocamento descrevem curvas denominadas carregamento-descarregamento e servem para caracterizar as amostras. Para medidas de propriedade mecânica utilizando testes de endentação normalmente é necessário medida da área da que ficou impressa na superfície analisada. Para a técnica de nanoindentação a área residual é obtida de maneira indireta. Pois conhecendo-se a geometria do indentador (ponta que penetra na amostra) é possível saber a área de contato por uma relação com a profundidade de penetração do nanoindentador (usando *deph-sensing indentation* a área será função da penetração)<sup>173,182</sup>.

A figura 8.4 mostra o processo de penetração da amostra com o nanoindentador juntamente com as variáveis geométricas associadas ao processo para a obtenção das propriedades mecânicas e a figura 8.5 mostra uma curva de um material penetrado por um endentador com comportamento elasto-plástico. A superfície penetrada por uma ponta com uma força crescente  $P$ , o nanoindentador é deslocado para dentro do material resultando numa profundidade de penetração  $h$ . Nessa profundidade ocorre deformação elástica e plástica levando à formação de uma impressão, que é da forma do penetrador



para qualquer profundidade de contato,  $h_c$ . Quando o nanoindentador é retirado, somente a porção elástica do deslocamento é recuperada.

Na tabela 8.2 estão as equações para a obtenção das propriedades mecânicas como módulo de elasticidade  $E$  e de dureza  $H$  a partir da curva de descarregamento e conhecendo-se algumas constantes.

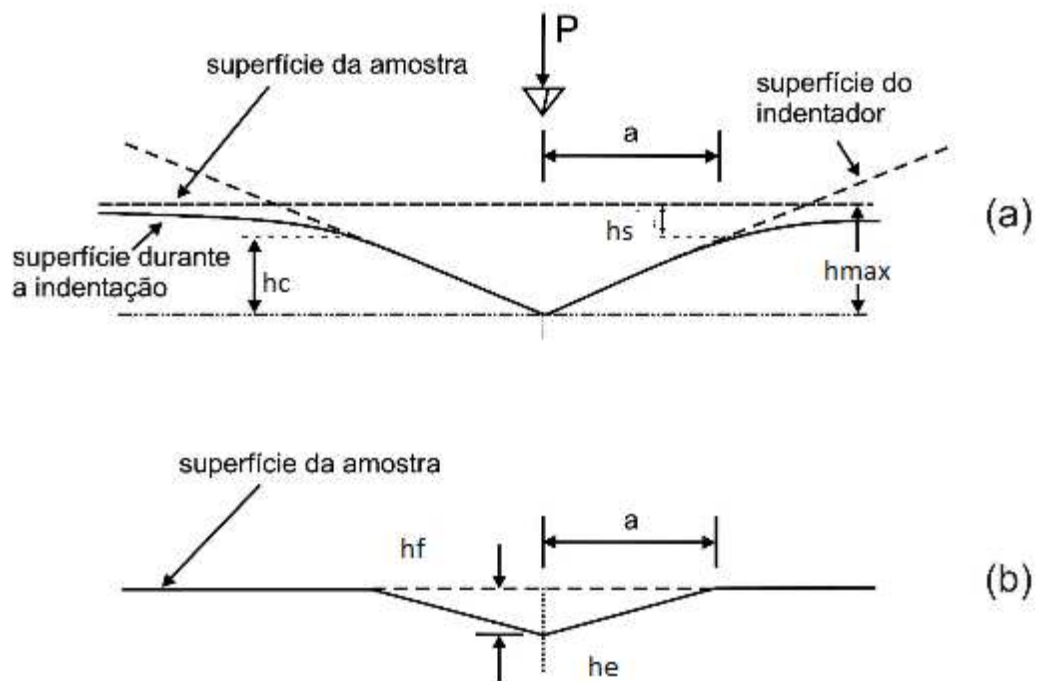


Figura 8. 4: Em (a) é mostrado o processo durante a endentação com endentador. Em (b) mostra a superfície pós-endentação. Figura adaptada da referência <sup>96</sup>.

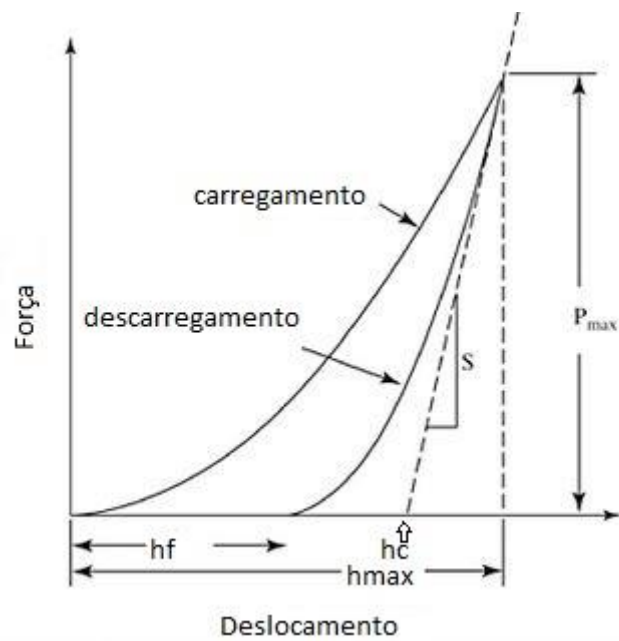


Figura 8. 5: Curva formada durante o processo de carregamento e descarregamento (força aplicada pela ponta) em função do deslocamento normal do nanoindentador.

Tabela 8. 2: Equações e constantes necessárias para o cálculo da dureza e do módulo de elasticidade <sup>182</sup>

| Para o cálculo da área A ( $h_c$ )   | Para o cálculo do módulo de elasticidade E  | Para o cálculo da dureza H         |
|--|---|------------------------------------|
| $h_{\max} = h_f + h_e = h_c + h_s$   | $S = \frac{dP}{dh}_{\max}$  | $H = \frac{P_{\max}}{A}$           |
| $h_c = h_{\max} - h_s$   | $S = \beta \frac{2}{\sqrt{\pi}} E_r \sqrt{A}$   | H – Dureza                         |
| $A = F(h_c)$   | $\frac{1}{E_r} = \frac{(1 - \nu^2)}{E} + \frac{(1 - \nu_i^2)}{E_i}$   | $P_{\max}$ – carga máxima aplicada |
| $h_s = \varepsilon \frac{P_{\max}}{S}$<br>$A(h_c) = 24,5 h_c^2$  | $\beta$ – constante adimensional do endentador<br>$\nu_i$ – coeficiente de Poisson do endentador<br>$\nu$ – Coeficiente de Poisson da amostra       |                                    |
| $h_{\max}$ – penetração máxima da ponta<br>$h_c$ – profundidade de contato<br>$h_f$ – profundidade final.<br>$h_e$ – deslocamento recuperado elasticamente | $S$ – Rigidez de contato<br>$P$ – Carga aplicada (Força)<br>$E_i$ – módulo de elasticidade do endentador<br>$E_r$ – módulo de elasticidade reduzido |                                    |

Para a avaliação das propriedades mecânicas de recobrimentos formados por Oxidação por Plasma Eletrolítico a técnica mais adequada é a técnica de Nanoindentação devido a ordem de grandeza espessuras dos recobrimentos formados <sup>48,182</sup>. A técnica não

mede as propriedades mecânicas isoladas do recobrimento e sim combinação desta com as propriedades do substrato<sup>172</sup>. Não há problema para a aplicação em biomateriais, pois a interação com tecido ósseo será o resultado conjunto do recobrimento com o substrato.

Durante a endentação, a carga  $P$  e a profundidade de penetração  $h$  são registradas podendo ser formado o gráfico da carga em função profundidade de penetração. A figura 8.6 reproduz a curva de materiais com comportamentos elásticos diferentes.

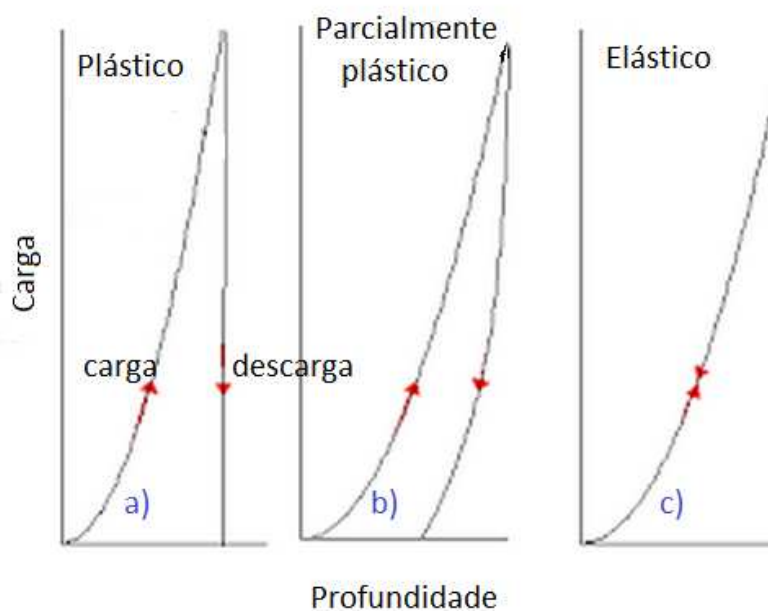


Figura 8. 6: Representação da carga em função da profundidade para os regimes: a) plástico; b) parcialmente plástico; c) elástico.

Vários tipos de indentadores podem ser utilizados como por exemplo piramidais, esféricos e cônicos. Para endentações de recobrimentos, os penetradores pontiagudos são preferidos, pois eles permitem que as propriedades de revestimentos bem finos sejam avaliadas. Uma ponta pontiaguda muito utilizada é a Berkovich. Ela é feita de diamante, possuindo a forma de uma pirâmide de três lados e impressão residual que ela deixa pode ser visualizada na figura 8.7.

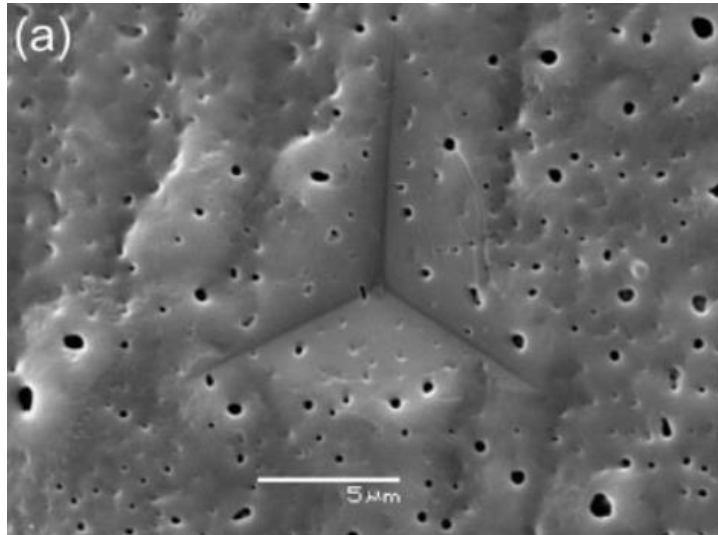


Figura 8. 7: Imagem obtida por MEV da impressão deixada nanoindentação usando ponta Berkovich sobre recobrimento produzido por OPE. Figura adaptada da referência <sup>46</sup>.

Para a obtenção das propriedades mecânicas por nanoindentação é necessário medir a rigidez de contato ( $S$ ) entre o indentedor e o material, a profundidade de contato corrigida ( $h_c$ ) e a área de contato entre o ponta e a superfície da amostra ( $A$ ). A rigidez  $S$  pode ser determinada pela inclinação da curva de descarregamento:

$$S = \frac{dP}{dh} P_{Máximo} \text{ (Eq.8.5)}$$

onde  $P_{máximo}$  é a força máxima durante a nanoindentação<sup>183</sup>.

A profundidade de contato  $h_c$  é menor que a profundidade de penetração total ( $h$ ) da ponta, e a profundidade corrigida é obtida a utilizando a eq. 8.6:

$$h_c = h - \varepsilon \frac{P}{S} \text{ (Eq. 8.6)}$$

onde  $\varepsilon$  é a constante geométrica associada à geometria da ponta penetradora. Para a ponta do indentador do tipo Berkovich piramidal de três lados  $\varepsilon = 0,75$  <sup>183</sup>

A dureza  $H$  é obtida pela eq. 8.5:

$$H = \frac{P}{A} \quad (\text{Eq. 8.5})$$

O módulo de elasticidade do material (E) pode ser calculado pela eq.8.6:

$$E = \left[ \frac{1 - \nu_s^2}{E_s} - \frac{1 - \nu_i^2}{E_i} \right]^{-1} \quad (\text{Eq. 8.6})$$

onde  $E_i$  e  $\nu_i$  são o módulo de elasticidade e o coeficiente de Poisson para o indentedor de diamante (i), e  $E_s$  e  $\nu_s$  são os coeficientes do amostra.

Método QCSM (quase-continuous Stiffness Measurement)

O método *QCSM* é um processo de medida de nanoindentação que permite que a rigidez de contato da amostra seja determinada em vários pontos durante a penetração e não somente pelas curvas de descarregamento como no método tradicional. Como consequência é possível determinar uma dureza  $H$  e módulo de elasticidade  $E$  dependentes da profundidade em um mesmo local da amostra. Comparados ao *QCSM*, os métodos cíclicos tem a desvantagem de realizar menos medidas por ponto, demandar maior tempo de medida e como consequência está sujeito a maiores influências do *drift* térmico. Outras vantagens do *QCSM* são o aumento da precisão de medidas executadas para baixas forças ( $< 0,5$  mN) e profundidades<sup>184</sup>.

No modo *QCSM* quando o valor da força imposta pelo indentedor é modificada, há pausas regulares na variação da força de aproximadamente 3 segundos. A cada pausa uma vibração sinusoidal é sobreposta à tensão (“voltagem”) do piezo. Em contraste com outros métodos, a amplitude da força ou profundidade da penetração do indentedor não são especificados diretamente. A amplitude e a fase da vibração são determinadas usando um filtro de encarceramento (*lock-in filter*)<sup>184</sup>.

A rigidez  $\underline{S}$  de contato é calculada a partir do quociente da força  $\underline{F}$  pela amplitude do deslocamento normal da ponta  $\underline{h}$ . Isso é equivalente a determinar o  $S$  a partir do ajustamento da curva de descarregamento usando o gradiente de  $S$  na força máxima<sup>184</sup>:

$$S = \frac{dF}{dh} \approx \frac{\Delta F}{\Delta h} \quad (\text{Eq. 8.7})$$

A alta rigidez de contato  $S$  (gradiente de descarregamento da curva) frequentemente causa um sinal de vibração desprezível, mesmo com grande deflexão do piezo. A maior parte do deslocamento do piezo é utilizado para os deslocamentos das molas para medidas de força. A amplitude da voltagem do piezo selecionada deve causar pelo menos um sinal de vibração de 2-3 nm. O padrão utilizado é de 4-15nm dependendo do material<sup>184</sup>.

A diferença entre a frequência de vibração e a frequência de ressonância tem que ser suficiente para ser possível uma medida precisa do  $S$ . É recomendado o uso da frequência entre 8-9Hz<sup>184</sup>.

A Figura 8.8 mostra um exemplo de uma medida de nanoindentação feita sobre a sílica (material utilizado para a calibragem). A linha preta representa a força normal aplicada pelo nanoindentador sobre a amostra (carregamento e descarregamento), a linha azul representa a amplitude de oscilação da força e linha verde é amplitude deslocamento. Os círculos pretos sobre as linhas representam os pontos das oscilações<sup>184</sup>.

Resumidamente a medida da rigidez de contato é obtida através quociente amplitude da frequência da força  $F$  pela amplitude da frequência do deslocamento normal  $h$ .

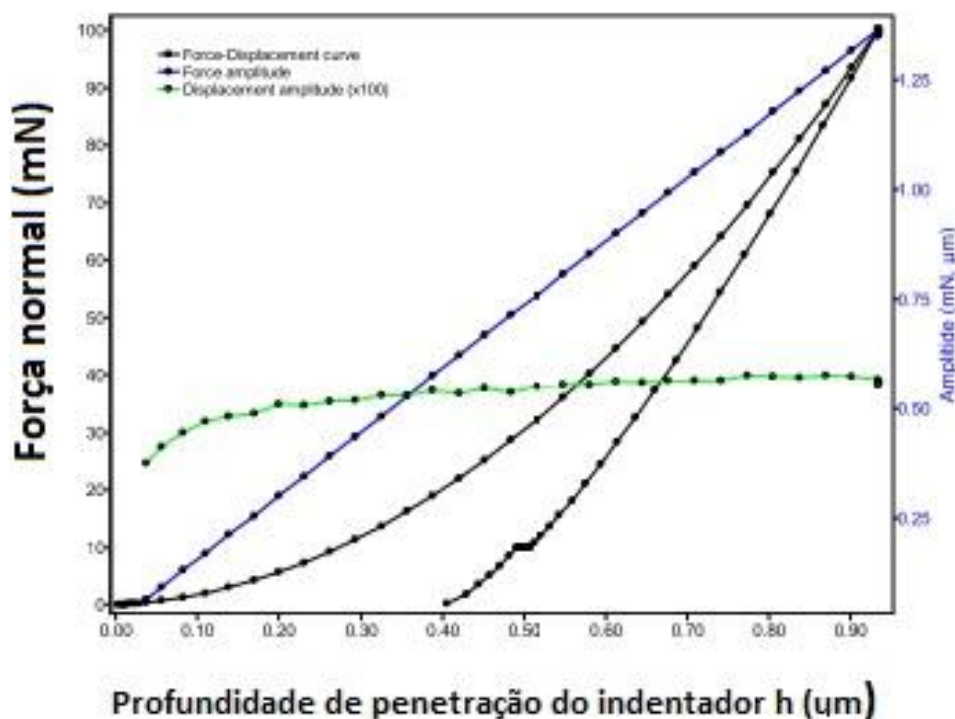


Figura 8. 8: Exemplo de curva gerada no durante a nanoindentação pelo processo QCSM. Adaptado da referência<sup>184</sup>.

#### Teste MTT para avaliação de viabilidade celular e proliferação

O teste MTT é usado para medir a atividade metabólica como um indicador de viabilidade e proliferação celular. Basicamente o teste verifica a quantidade de sal amarelo de tetrazólio (MTT) que é convertido em cristais de formazan através de atividade metabólicas. As células viáveis contêm enzimas oxido-redutase dependente de NAD(P)H que reduzem o MTT em cristais de formazan<sup>185,186</sup>. A partir deste ponto, o teste passa ser espectroscópico, pois quando o sal é convertido em cristal este passa ter a “coloração roxa”, e quanto mais intenso a coloração maior a quantidade de reações e maior a viabilidade celular como mostra a figura 8.9. Para o quantificar o número de células a placa com os poços é posta em um espectrofotômetro. Este aparato emite comprimentos de luz que vão ao encontro da solução contendo os cristais de formazan e



mede a absorbância nos poços<sup>186</sup>. Com isso pode ser estimada a quantidade de células por poço.



Figura 8. 9: Representação do metabolismo do MTT para o formazan em diferentes poços. O número de células está representado de maneira crescente da esquerda para a direita.

## 9 Referências

1. Research, G. V. Orthopedic Implants Market Analysis, By Application (Spinal fusion, Long bone, Foot & Ankle, Craniomaxillofacial, Joint replacement, Dental), And Segment Forecasts To 2024. (2016). Available at: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/orthopedic-implants-market/>. (Accessed: 7th July 2020)
2. Zhang, M. *et al.* A novel functional biomaterial: Synthesis, characterization and in-vitro antibacterial activity. *Mater. Lett.* **93**, 282–284 (2013).
3. Melo, L., Silva, M., Bernardo, J. M. de P., Marques, E. B. & Leite, I. C. G. Perfil epidemiológico de casos incidentes de câncer de boca e faringe. *Rev. Gaucha Odontol.* **58**, 351–355 (2010).
4. Andani, M. T. *et al.* Metals for bone implants. Part 1. Powder metallurgy and implant rendering. *Acta Biomater.* **10**, 4058–70 (2014).
5. Park, J. & Lakes, R. S. *Biomaterials: An Introduction*. (Springer, 2007).
6. Chen, Z. X., Takao, Y., Wang, W. X., Matsubara, T. & Ren, L. M. Surface characteristics and in vitro biocompatibility of titanium anodized in a phosphoric acid solution at different voltages. *Biomed. Mater.* **4**, 065003 (2009).
7. Williams, D. F. *Biofunctionality and Biocompatibility*. (Materials Science and Technology – A Comprehensive Treatment – Medical and Dental Materials, 1992).
8. Fini, M. *et al.* Osteoporosis and biomaterial osteointegration. *Biomed. Pharmacother.* **58**, 487–93 (2004).
9. Chen, Q. & Thouas, G. A. Metallic implant biomaterials. *Mater. Sci. Eng. R Reports* **87**, 1–57 (2015).
10. Paine, A. J. Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: Review of the literature from 1985 to 2000. *Hum. Exp. Toxicol.* **20**, 439–451 (2001).
11. Tsuchiya, T. *et al.* A method to monitor corrosion of chromium-iron alloys by monitoring the chromium ion concentration in urine. *Mater. Trans.* **43**, 3058–3064 (2002).
12. Rudolf, E. A review of findings on chromium toxicity [Prehled poznatků o toxicite chromu.]. *Acta Medica (Hradec Kralove). Suppl.* **41**, 55–65 (1998).
13. Oliveira, S. C. B. & Oliveira-Brett, A. M. In situ evaluation of chromium-DNA damage using a DNA-electrochemical biosensor. *Anal. Bioanal. Chem.* **398**, 1633–1641 (2010).
14. Nickens, K. P., Patierno, S. R. & Ceryak, S. Chromium genotoxicity: A double-edged sword. *Chem. Biol. Interact.* **188**, 276–288 (2010).
15. Lison, D. Human toxicity of cobalt-containing dust and experimental studies on the mechanism of interstitial lung disease (hard metal disease). *Crit. Rev. Toxicol.* **26**, 585–616 (1996).
16. Basketter, D. A., Angelini, G., Ingber, A., Kern, P. S. & Menné, T. Nickel, chromium and cobalt in consumer products: Revisiting safe levels in the new millennium. *Contact Dermatitis* **49**, 1–7 (2003).
17. Kobayashi, M. & Shimizu, S. Cobalt proteins. *Eur. J. Biochem.* **261**, 1–9 (1999).

18. Viani, Rinantonio; Petracco, M. Cobalt and Cobalt Compounds. *Ullmann's Encycl. Ind. Chem.* 467–497 (2012). doi:10.1002/14356007.a07
19. Tower, S. S. Arthroprosthetic cobaltism: Neurological and cardiac manifestations in two patients with metal-on-metal arthroplasty: A case report. *J. Bone Jt. Surg. - Ser. A* **92**, 2847–2851 (2010).
20. Mao, X., Wong, A. A. & Crawford, R. W. Cobalt toxicity--an emerging clinical problem in patients with metal-on-metal hip prostheses? *Med. J. Aust.* **194**, 649–51 (2011).
21. Stephen, S. Arthroprosthetic cobaltism associated with metal on metal hip implants. *BMJ* **344**, 2847 (2012).
22. Jonmaire, P. Molybdenum. *Hamilt. Hardy's Ind. Toxicol. Sixth Ed.* **37**, 167–172 (2015).
23. Liber, K., Doig, L. E. & White-Sobey, S. L. Toxicity of uranium, molybdenum, nickel, and arsenic to *Hyalella azteca* and *Chironomus dilutus* in water-only and spiked-sediment toxicity tests. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **74**, 1171–1179 (2011).
24. Ress, N. B. *et al.* Carcinogenicity of inhaled vanadium pentoxide in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicol. Sci.* **74**, 287–296 (2003).
25. Ress, N. B. *et al.* Carcinogenicity of inhaled vanadium pentoxide in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicol. Sci.* **74**, 287–296 (2003).
26. Yasui, M. & Verity, M. A. *Mineral and Metal Neurotoxicology*. (CRC Press, 1996).
27. Köster, R. *et al.* Nickel and molybdenum contact allergies in patients with coronary in-stent restenosis. *Lancet (London, England)* **356**, 1895–7 (2000).
28. Raven, E., Le Brun, N. E., McMaster, J., Reedijk, J. & Robinson, N. J. Bioinorganic chemistry. *Dalt. Trans.* **42**, 3027 (2013).
29. Umbreit, J. Iron deficiency: A concise review. *Am. J. Hematol.* **78**, 225–231 (2005).
30. Hoppe, J. O., Agnew Marcelli, M. G. & Tainter, M. L. A REVIEW OF THE TOXICITY OF IRON COMPOUNDS. *Am. J. Med. Sci.* **230**, 558–571 (1955).
31. Cheney, K., Gumbiner, C., Benson, B. & Tenenbein, M. Survival after a severe iron poisoning treated with intermittent infusions of deferoxamine. *Clin. Toxicol.* **33**, 61–66 (1995).
32. Abdel-Mageed, A. B. & Oehme, F. W. A review of the biochemical roles, toxicity and interactions of zinc, copper and iron: III. iron. *Vet. Hum. Toxicol.* **32**, 324–328 (1990).
33. Brar, S., Henderson, D., Schenck, J. & Zimmerman, E. A. Iron accumulation in the substantia nigra of patients with Alzheimer disease and parkinsonism. *Arch. Neurol.* **66**, 371–374 (2009).
34. Abdel-Hady Gepreel, M. & Niinomi, M. Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **20**, 407–415 (2013).
35. Niinomi, M. Recent titanium R&D for biomedical applications in japan. *Jom* **51**, 32–34 (1999).
36. Kawahara, H. Cytotoxicity of Implantable Metals and Alloys. *Bull. Japan Inst.*

- Met.* **31**, 1033–1039 (1992).
37. Williams, D. F. Corrosion of Implant Materials. *Annu. Rev. Mater. Sci.* (1976). doi:1976.6:273-266
  38. Yan, Y., Neville, A. & Dowson, D. Biotribocorrosion—an appraisal of the time dependence of wear and corrosion interactions: I. The role of corrosion. *J. Phys. D. Appl. Phys.* **39**, 3200–3205 (2006).
  39. Minagar, S., Berndt, C. C., Wang, J., Ivanova, E. & Wen, C. A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces. *Acta Biomater.* **8**, 2875–2888 (2012).
  40. Gupta, S., Dahiya, V. & Shukla, P. Surface topography of dental implants: A review. *J. Dent. Implant.* **4**, 66 (2014).
  41. Rack, H. J. & Qazi, J. I. Titanium alloys for biomedical applications. *Mater. Sci. Eng. C* **26**, 1269–1277 (2006).
  42. Goriainov, V., Cook, R., M Latham, J., G Dunlop, D. & Oreffo, R. O. C. Bone and metal: an orthopaedic perspective on osseointegration of metals. *Acta Biomater.* **10**, 4043–57 (2014).
  43. Sumita, M., Hanawa, T. & Ohnishi, I. Failure Processes in Biometallic Materials. *Compr. Struct. Integr.* 131–167 (2003).
  44. Jacobs, J. J. *et al.* Metal release and excretion from cementless titanium alloy total knee replacements. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 173–180 (1999).
  45. Brayda-Bruno, M. *et al.* Evaluation of systemic metal diffusion after spinal pedicular fixation with titanium alloy and stainless steel system: A 36-month experimental study in sheep. *Int. J. Artif. Organs* **24**, 41–49 (2001).
  46. Soares, P. *et al.* Hardness and elastic modulus of TiO<sub>2</sub> anodic films measured by instrumented indentation. *J. Biomed. Mater. Res. B. Appl. Biomater.* **84**, 524–30 (2008).
  47. Niinomi, M. Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **1**, 30–42 (2008).
  48. Souza, G. B. De *et al.* Nanomechanical and nanotribological properties of bioactive titanium surfaces prepared by alkali treatment. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **4**, 756–65 (2011).
  49. Capurro, M. & Barberis, F. *Biomaterials for Bone Regeneration. Biomaterials for Bone Regeneration* (Elsevier, 2014). doi:10.1533/9780857098104.2.270
  50. Matsuno, H., Yokoyama, A., Watari, F., Uo, M. & Kawasaki, T. Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium. *Biomaterials* **22**, 1253–1262 (2001).
  51. Boschini, L. C. & Alencar, P. G. C. Stress shielding: avaliação radiográfica após seguimento a longo prazo. *Rev. Bras. Ortop.* **42**, 290–296 (2007).
  52. Williams, D. F. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials* **29**, 2941–53 (2008).
  53. Teng, F. *et al.* Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers The structures, electrochemical and cell performance of titania films formed on titanium by micro-arc oxidation. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **45**, 1331–1337 (2014).

54. Borcz, C., Lepienski, C. M. & Brunatto, S. F. Surface modification of pure niobium by plasma nitriding. *Surf. Coatings Technol.* **224**, 114–119 (2013).
55. Lombardi, A., Thomas, M., Mallory, T., Vaughn, B. & Drouillard, P. Aseptic loosening in total hip arthroplasty secondary to osteolysis induced by wear debris from titanium-alloy modular femoral heads. *J. Bone Joint Surg. Am.* **73**, 470–2 (1991).
56. Papageorgiou, I. *et al.* Macrophages detoxify the genotoxic and cytotoxic effects of surgical cobalt chrome alloy particles but not quartz particles on human cells in vitro. *Mutat. Res.* **643**, 11–9 (2008).
57. Geetha, M., Singh, a. K., Asokamani, R. & Gogia, a. K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. *Prog. Mater. Sci.* **54**, 397–425 (2009).
58. Sul, Y.-T. *et al.* Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition. *Biomaterials* **23**, 491–501 (2002).
59. Kim, K.-H. & Ramaswamy, N. Electrochemical surface modification of titanium in dentistry. *Dent. Mater. J.* **28**, 20–36 (2009).
60. Schwarz, M. L. R. *et al.* Effect of surface roughness, porosity, and a resorbable calcium phosphate coating on osseointegration of titanium in a minipig model. *J. Biomed. Mater. Res. A* **89**, 667–78 (2009).
61. Sul, Y.-T. *et al.* Oxidized implants and their influence on the bone response. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2**, 1025–1031 (2001).
62. Jaeggi, C. *et al.* Film formation and characterization of anodic oxides on titanium for biomedical applications. in *Surface and Interface Analysis* **38**, 182–185 (2006).
63. Li, L.-H. *et al.* Improved biological performance of Ti implants due to surface modification by micro-arc oxidation. *Biomaterials* **25**, 2867–75 (2004).
64. Zwillling, V., Aucouturier, M. & Darque-Ceretti, E. Anodic oxidation of titanium and TA6V alloy in chromic media. An electrochemical approach. *Electrochim. Acta* **45**, 921–929 (1999).
65. Miyazaki, T. Development of bioactive materials based on bone-bonding mechanism on metal oxides. *J. Ceram. Soc. Japan* **116**, 260–264 (2008).
66. Antônio, C. A. Deposição por plasma eletrolítico em ligas de alumínio. (Universidade Estadual Paulista, 2011).
67. Cui, X., Kim, H., Kawashita, M. & Wang, L. Preparation of bioactive titania films on titanium metal via anodic oxidation. *Dent. Mater.* **5**, 80–86 (2009).
68. Park, Y.-J., Shin, K.-H. & Song, H.-J. Effects of anodizing conditions on bond strength of anodically oxidized film to titanium substrate. *Appl. Surf. Sci.* **253**, 6013–6018 (2007).
69. Brandao, M. L. de, Esposti, T. B. D., Bisognin, E. D. & Harari, N. D. Superfície dos implantes osseointegrados X resposta biológica. *Rev. Implant.* **7**, 95–101 (2010).
70. Kim, D. *et al.* Formation of hydroxyapatite within porous TiO<sub>2</sub> layer by micro-arc oxidation coupled with electrophoretic deposition. *Acta Biomater.* **5**, 2196–

- 2205 (2009).
71. Lima, G. Propriedades mecânicas e de biotividade de filmes anódicos de titânio, contendo íons de Ca e P, submetidos a tratamentos térmicos e de hidrotérmicos. (Universidade Federal do Paraná, 2013).
  72. Cui, X., Kim, H., Kawashita, M., Wang, L. & Xiong, T. Apatite Formation on Anodized Ti-6Al-4V Alloy in Simulated Body Fluid. **16**, 407–412 (2010).
  73. Kim, S. E. *et al.* Anodically nanostructured titanium oxides for implant applications. *Electrochim. Acta* **53**, 4846–4851 (2008).
  74. Szesz, E. M. *et al.* Electrochemical and morphological analyses on the titanium surface modified by shot blasting and anodic oxidation processes. in *Thin Solid Films* **528**, 163–166 (Elsevier B.V., 2013).
  75. Ha, H., Kim, C., Lim, Y. & Kim, M. Surface characteristics of anodic oxidized titanium according to the pore size. **44**, 343–355 (2006).
  76. Park, T.-E., Choe, H.-C. & Brantley, W. a. Bioactivity evaluation of porous TiO<sub>2</sub> surface formed on titanium in mixed electrolyte by spark anodization. *Surf. Coatings Technol.* **235**, 706–713 (2013).
  77. Neupane, M. P. *et al.* Study of Anodic Oxide Films of Titanium Fabricated by Voltammetric Technique in Phosphate Buffer Media. **4**, 197–207 (2009).
  78. Afshar, A. & Vaezi, M. Evaluation of electrical breakdown of anodic films on titanium in phosphate-base solutions. *Surf. Coatings Technol.* **186**, 398–404 (2004).
  79. Zhu, X., Kim, K. H. & Jeong, Y. Anodic oxide films containing Ca and P of titanium biomaterial. *Biomaterials* **22**, 2199–2206 (2001).
  80. Pereira, B. L., Lepienski, C. M., Mazzaro, I. & Kuromoto, N. K. Apatite grown in niobium by two-step plasma electrolytic oxidation. *Mater. Sci. Eng. C* **77**, 1235–1241 (2017).
  81. Kuroda, K., Moriyama, M., Ichino, R., Okido, M. & Seki, A. Formation and in Vivo Evaluation of Carbonate Apatite and Carbonate Apatite/CaCO<sub>3</sub> Composite Films Using the Thermal Substrate Method in Aqueous Solution. *Mater. Trans.* **49**, 1434–1440 (2008).
  82. Ikehata, H. *et al.* First-principles calculations for development of low elastic modulus Ti alloys. *Phys. Rev. B* **70**, 174113 (2004).
  83. Kaseem, M. & Choe, H. C. Electrochemical and bioactive characteristics of the porous surface formed on Ti-xNb alloys via plasma electrolytic oxidation. *Surf. Coatings Technol.* **378**, 125027 (2019).
  84. Da Silva, L. M., Alves Claro, A. P. R., Buzalaf, M. A. R. & Grandini, C. R. Influence of the substitutional solute on the mechanical properties of Ti-Nb Binary Alloys for Biomedical Use. *Mater. Res.* **15**, 355–358 (2012).
  85. Bönisch, M., Calin, M., Van Humbeeck, J., Skrotzki, W. & Eckert, J. Factors influencing the elastic moduli, reversible strains and hysteresis loops in martensitic Ti-Nb alloys. *Mater. Sci. Eng. C* **48**, 511–520 (2015).
  86. Gutiérrez Moreno, J. J. *et al.* Ab-initio and experimental study of phase stability of Ti-Nb alloys. *J. Alloys Compd.* **696**, 481–489 (2017).
  87. Zhang, Y., Sun, D., Cheng, J., Tsoi, J. K. H. & Chen, J. Mechanical and biological

- properties of Ti-(0-25 wt%)Nb alloys for biomedical implants application. *Regen. Biomater.* **7**, 119–127 (2019).
88. Do, C., Mineral, B. E. M. & Hatchett, C. Nióbio. 129–147
  89. USGS. *Mineral Commodity Summaries 2020*. U.S Department OF The Interior, (2020).
  90. Sowa, M. *et al.* Modification of tantalum surface via plasma electrolytic oxidation in silicate solutions. *Electrochim. Acta* **114**, 627–636 (2013).
  91. Pereira, B. L. *et al.* Oxide coating containing apatite formed on Ti-25Nb-25Ta alloy treated by Two-Step Plasma Electrolytic Oxidation. *Surf. Coatings Technol.* **382**, 125224 (2020).
  92. Pereira, B. L., da Luz, A. R., Lepienski, C. M., Mazzaro, I. & Kuromoto, N. K. Niobium treated by Plasma Electrolytic Oxidation with calcium and phosphorus electrolytes. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **77**, 347–352 (2018).
  93. Ratner, B. D. & Hoffman, A. S. *An Introduction to Materials in Medicine: Third Edition. Biomaterials Science: An Introduction to Materials: Third Edition* (2013). doi:10.1016/B978-0-08-087780-8.00027-9
  94. Helmus, M. & Tweden, K. *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*. (Materials Selection., 1995).
  95. Wang, Y. Bioadaptability: An Innovative Concept for Biomaterials. *J. Mater. Sci. Technol.* **32**, 801–809 (2016).
  96. Souza, G. B. De. Caracterizações físicas e químicas e de bioatividade de superfícies de titânio para aplicações biomédicas. (UFPR, 2010).
  97. Brånemark, R., Brånemark, P. I., Rydevik, B. & Myers, R. R. Osseointegration in skeletal reconstruction and rehabilitation: a review. *J. Rehabil. Res. Dev.* **38**, 175–81 (2001).
  98. Albrektsson, T., Brunski, J. & Wennerberg, A. ‘A requiem for the periodontal ligament’ revisited. *Int. J. Prosthodont.* **22**, 120–2 (2009).
  99. Kärrholm, J. *et al.* Radiostereometry of hip prostheses. Review of methodology and clinical results. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 94–110 (1997).
  100. Wang, X. J. *et al.* In vitro bioactivity evaluation of titanium and niobium metals with different surface morphologies. *Acta Mater. Inc* **4**, 1530–1535 (2008).
  101. Kokubo, T., Kim, H.-M. & Kawashita, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials* **24**, 2161–2175 (2003).
  102. Singer, S. J. & Nicolson, G. L. The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes. *Science (80-. ).* **175**, 720–731 (1972).
  103. Wei, D. & Zhou, Y. Coatings for Biomedical Implication. *Biomim. Based Appl.* **9**, 201–225 (2008).
  104. Bacakova, L., Filova, E., Parizek, M., Ruml, T. & Svorcik, V. Modulation of cell adhesion, proliferation and differentiation on materials designed for body implants. *Biotechnol. Adv.* **29**, 739–67 (2011).
  105. Coutinho, M. P. Influência na morfologia da superfície na molhabilidade do titânio comercialmente puro. (Instituto Militar de Engenharia, 2007).
  106. Luz, A., Ribeiro, S. & Pandolfelli, V. Artigo revisão: Uso da molhabilidade na

- investigação do comportamento de corrosão de materiais refratários. *Cerâmica* **54**, 174–183 (2008).
107. Lin, K., Wu, C. & Chang, J. Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape. *Acta Biomater.* **10**, 4071–4102 (2014).
  108. Park, J. H. *et al.* The responses to surface wettability gradients induced by chitosan nanofilms on microtextured titanium mediated by specific integrin receptors. *Biomaterials* **33**, 7386–93 (2012).
  109. Buser, D. *et al.* Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface. *J. Dent. Res.* **83**, 529–33 (2004).
  110. Kuboki, Y. *et al.* BMP-induced osteogenesis on the surface of hydroxyapatite with geometrically feasible and nonfeasible structures: topology of osteogenesis. *J. Biomed. Mater. Res.* **39**, 190–9 (1998).
  111. Hulbert, S. F., Morrison, S. J. & Klawitter, J. J. Tissue reaction to three ceramics of porous and non-porous structures. *J. Biomed. Mater. Res.* **6**, 347–74 (1972).
  112. Puleo, D. A. & Thomas, M. V. Implant surfaces. *Dent. Clin. North Am.* **50**, 323–338 (2006).
  113. Schupbach, P. *et al.* The Human Bone–Oxidized Titanium Implant Interface: A Light Microscopic, Scanning Electron Microscopic, Back-Scatter Scanning Electron Microscopic, and Energy-Dispersive X-Ray Study of Clinically Retrieved Dental Implants. *Clin. Implant Dent. Relat. Res.* **7**, s36–s43 (2005).
  114. Lu, J., Flautre, B. & Anselme, K. Role of interconnections in porous bioceramics on bone recolonization in vitro and in vivo. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **10**, 111–120 (1999).
  115. Weiner, S. & Wagner, H. D. THE MATERIAL BONE: Structure-Mechanical Function Relations. *Annu. Rev. Mater. Sci.* **28**, 271–298 (2002).
  116. Anselme, K. Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials* **21**, 667–681 (2000).
  117. Wennerberg, A. & Albrektsson, T. Effects of titanium surface topography on bone integration: A systematic review. *Clin. Oral Implants Res.* **20**, 172–184 (2009).
  118. Rønold, H. J., Lyngstadaas, S. P. & Ellingsen, J. E. Analysing the optimal value for titanium implant roughness in bone attachment using a tensile test. *Biomaterials* **24**, 4559–4564 (2003).
  119. Lohmann, C. H. *et al.* Maturation State Determines the Response of Osteogenic Cells to Surface Roughness and 1, 25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. **15**, 1169–1180 (2000).
  120. Kim, H. J. *et al.* Varying Ti-6Al-4V surface roughness induces different early morphologic and molecular responses in MG63 osteoblast-like cells. *J. Biomed. Mater. Res. A* **74**, 366–73 (2005).
  121. Dohan Ehrenfest, D. M., Coelho, P. G., Kang, B.-S., Sul, Y.-T. & Albrektsson, T. Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography. *Trends Biotechnol.* **28**, 198–206 (2010).
  122. Wennerberg, A. *et al.* Titanium release from implants prepared with different surface roughness. *Clin. Oral Implants Res.* **15**, 505–12 (2004).
  123. Fukada, E. & Yasuda, I. On the Piezoelectric Effect of Bone. *J. Phys. Soc. Japan*



- 12**, 1158–1162 (1957).
124. Liu, X., Chu, P. & Ding, C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Mater. Sci. Eng. R Reports* **47**, 49–121 (2004).
  125. Niinomi, M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Mater. Sci. Eng. A* **243**, 231–236 (1998).
  126. Gupta, C. K. & Suri, A. K. *Extractive Metallurgy of Niobium*. (1993).
  127. Lütjering, G. & Williams, J. C. *Titanium*. (Springer Berlin Heidelberg, 2007).
  128. Davis, J. R. *Alloying: Understanding the Basics*. (A S M International, 2001).
  129. Kwokal, A. & Piljac, J. The influence of niobium and vanadium on passivity of titanium-based implants in physiological solution. **24**, 3765–3775 (2003).
  130. Cardarelli, F. *Materials Handbook*. (Springer London, 2008). doi:10.1007/978-1-84628-669-8
  131. Rubitschek, F., Niendorf, T., Karaman, I. & Maier, H. J. Corrosion fatigue behavior of a biocompatible ultrafine-grained niobium alloy in simulated body fluid. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **5**, 181–92 (2012).
  132. Asselin, E., Ahmed, T. M. & Alfantazi, A. Corrosion of niobium in sulphuric and hydrochloric acid solutions at 75 and 95 ° C. **49**, 694–710 (2007).
  133. Gentil, V. *Corrosão*. (Livros Tecnicos e Cientificos, 2003).
  134. Lemons, J. E., Niemann, K. M. W. & Weiss, A. B. Biocompatibility studies on surgical-grade titanium-, cobalt-, and iron-base alloys. *J. Biomed. Mater. Res.* **10**, 549–553 (1976).
  135. Davis, J. R. *Handbook of Materials for Medical Devices*. (ASM International, 2003).
  136. Khorasani, A. M., Goldberg, M., Doeven, E. H. & Littlefair, G. *Titanium in biomedical applications—properties and fabrication: A review. Journal of Biomaterials and Tissue Engineering* **5**, (2015).
  137. Park, Y. J., Song, Y. H., An, J. H., Song, H. J. & Anusavice, K. J. Cytocompatibility of pure metals and experimental binary titanium alloys for implant materials. *J. Dent.* **41**, 1251–1258 (2013).
  138. Cojocaru, V. D. *et al.* The mechanical properties evaluation for an as-cast Ti-Ta-Zr alloy. *Metal. Int.* **16**, 35–38 (2011).
  139. Tong, Y. X., Guo, B., Zheng, Y. F., Chung, C. Y. & Ma, L. W. Effects of Sn and Zr on the microstructure and mechanical properties of Ti-Ta-based shape memory alloys. *J. Mater. Eng. Perform.* **20**, 762–766 (2011).
  140. Raducanu, D. *et al.* Mechanical and corrosion resistance of a new nanostructured Ti – Zr – Ta – Nb alloy. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **4**, 1421–1430 (2011).
  141. Committee, A. S. M. I. H. *ASM Handbook*. (ASM International, 2005).
  142. Martins, G. V. *et al.* Beta Ti-45Nb and Ti-50Nb Alloys Produced by Powder Metallurgy for Aerospace Application. *Mater. Sci. Forum* **660–661**, 405–409 (2010).
  143. Sista, S., Wen, C., Hodgson, P. D. & Pande, G. The influence of surface energy of titanium-zirconium alloy on osteoblast cell functions in vitro. *J. Biomed. Mater.*

*Res. - Part A* **97 A**, 27–36 (2011).

144. Byeon, I. S., Hwang, I. J., Choe, H. C. & Brantley, W. A. Electrochemically-coated hydroxyapatite films on nanotubular Ti[*sbnd*]Nb alloys prepared in solutions containing Ca, P, and Zn ions. *Thin Solid Films* **620**, 132–138 (2016).
145. Weinmann, M. *et al.* Development of bio-compatible refractory Ti / Nb ( / Ta ) alloys for application in patient-specific orthopaedic implants. *19th Plansee Semin.* 2017 1–20 (2017). doi:10.1016/j.ijrmhm.2018.03.018
146. Dalmau, A., Guiñón Pina, V., Devesa, F., Amigó, V. & Igual Muñoz, A. Electrochemical behavior of near-beta titanium biomedical alloys in phosphate buffer saline solution. *Mater. Sci. Eng. C* **48**, 56–62 (2015).
147. Breme, J. & Wadewitz, V. Comparison of titanium-tantalum and titanium-niobium alloys for application as dental implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **4**, 113–8 (1989).
148. Curran, J. a. & Clyne, T. W. Porosity in plasma electrolytic oxide coatings. *Acta Mater.* **54**, 1985–1993 (2006).
149. Sul, Y. T., Johansson, C. B., Jeong, Y. & Albrektsson, T. The electrochemical oxide growth behaviour on titanium in acid and alkaline electrolytes. *Med. Eng. Phys.* **23**, 329–346 (2001).
150. Yerokhin, a. L., Nie, X., Leyland, a., Matthews, a. & Dowey, S. J. Plasma electrolysis for surface engineering. *Surf. Coatings Technol.* **122**, 73–93 (1999).
151. Darband, G. B., Aliofkhaezrai, M., Hamghalam, P. & Valizade, N. Plasma electrolytic oxidation of magnesium and its alloys : Mechanism , properties and applications. *J. Magnes. Alloy.* **5**, 74–132 (2017).
152. Tang, G., Zhang, R., Yan, Y. & Zhu, Z. Preparation of porous anatase titania film. **58**, 1857–1860 (2004).
153. Bouchama, L. *et al.* Enhancing aluminum corrosion resistance by two-step anodizing process. *Surf. Coatings Technol.* **235**, 676–684 (2013).
154. Pereira, B. L. Avaliação das propriedades mecânicas e da adesão de filmes de óxidos obtidos por anodização em substrato de nióbio. (Universidade Federal do Paraná, 2015).
155. Gadelmawla, E. S., Koura, M. M., Maksoud, T. M. A., Elewa, I. M. & Soliman, H. H. Roughness parameters. *J. Mater. Process. Technol.* **123**, 133–145 (2002).
156. ASTM G102. Standard Practice for from Electrochemical Measurements. *Astm* **89**, 1–7 (2015).
157. Burnat, B., Walkowiak-Przybyło, M., Błaszczuk, T. & Klimek, L. Corrosion behaviour of polished and sandblasted titanium alloys in PBS solution. *Acta Bioeng. Biomech.* **15**, 87–95 (2013).
158. Ponte, H. de A. Fundamentos da Corrosão. (Universidade Federal do Paraná).
159. Kanduč, M., Schneck, E. & Netz, R. R. Attraction between hydrated hydrophilic surfaces. *Chem. Phys. Lett.* **610–611**, 375–380 (2014).
160. Arima, Y. & Iwata, H. Effect of wettability and surface functional groups on protein adsorption and cell adhesion using well-defined mixed self-assembled monolayers. *Biomaterials* **28**, 3074–82 (2007).

161. Rao, X., Chu, C. L., Sun, Q. & Zheng, Y. Y. Fabrication and apatite inducing ability of different porous titania structures by PEO treatment. *Mater. Sci. Eng. C* **66**, 297–305 (2016).
162. Cowin, S. C. Bone poroelasticity. *Bone Mech. Handbook, Second Ed.* **32**, 23-1-23–31 (2001).
163. Tan, A. W., Pingguan-Murphy, B., Ahmad, R. & Akbar, S. A. Review of titania nanotubes: Fabrication and cellular response. *Ceram. Int.* **38**, 4421–4435 (2012).
164. Klenke, F. M. *et al.* Impact of pore size on the vascularization and osseointegration of ceramic bone substitutes in vivo. *J. Biomed. Mater. Res. - Part A* **85**, 777–786 (2008).
165. Toffoli, A. *et al.* Thermal treatment to increase titanium wettability induces selective proteins adsorption from blood serum thus affecting osteoblasts adhesion. *Mater. Sci. Eng. C* **107**, 110250 (2020).
166. Oliver, W. C. & Pharr, G. M. Measurement of hardness and elastic modulus by instrumented indentation: Advances in understanding and refinements to methodology. *Mater. Res.* **19**, (2004).
167. Lima, G. G. De, Souza, G. B. De, Lepienski, C. M. & Kuromoto, K. Mechanical properties of anodic titanium films containing ions of Ca and P submitted to heat and hydrothermal treatment. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **64**, 18–30 (2016).
168. Shcherbina, O. B., Palatnikov, M. N. & Efremov, V. V. Mechanical properties of Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> prepared by different procedures. *Inorg. Mater.* **48**, 433–438 (2012).
169. Goodfellow GmbH. Titanium Dioxide - Titania (TiO<sub>2</sub>). 1–9 (2002). Available at: <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=1179> P.
170. Meyers, M. *et al.* *Mechanical Behavior of Materials*.
171. Beilner, G., Pereira, B. L., Lepienski, C. M. & Souza, G. B. De. Ti-25Nb-25Ta alloy treated by plasma electrolytic oxidation in phosphoric acid for implant applications. *Matéria* (2020).
172. Saha, R. & Nix, W. D. Effects of the substrate on the determination of thin film mechanical properties by nanoindentation. *Acta Mater.* **50**, 23–38 (2002).
173. Fischer-Cripps, A. C. *Nanoindentation*. **3**, (Springer New York, 2011).
174. Siu, H. T. & Man, H. C. Fabrication of bioactive titania coating on nitinol by plasma electrolytic oxidation. *Appl. Surf. Sci.* **274**, 181–187 (2013).
175. Narayanan, R. & Seshadri, S. Phosphoric acid anodization of Ti–6Al–4V–Structural and corrosion aspects. *Corros. Sci.* **49**, 542–558 (2007).
176. Olivares-Navarrete, R., Olaya, J. J., Ramírez, C. & Rodil, S. E. Biocompatibility of Niobium Coatings. *Coatings* **1**, 72–87 (2011).
177. Eisenbarth, E., Velten, D., Müller, M., Thull, R. & Breme, J. Nanostructured niobium oxide coatings influence osteoblast adhesion. *J. Biomed. Mater. Res. A* **79**, 166–75 (2006).
178. Ochsenbein, A. *et al.* Osteoblast responses to different oxide coatings produced by the sol-gel process on titanium substrates. *Acta Biomater.* **4**, 1506–17 (2008).
179. Karlinsey, R. L., Hara, A. T., Yi, K. & Duhn, C. W. Bioactivity of novel self-

- assembled crystalline Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> microstructures in simulated and human salivas. *Biomed. Mater.* **1**, 16–23 (2006).
180. Yang, B. Preparation of bioactive titanium metal via anodic oxidation treatment. *Biomaterials* **25**, 1003–1010 (2004).
  181. Fattah-alhosseini, A., Babaei, K. & Molaei, M. Plasma electrolytic oxidation (PEO) treatment of zinc and its alloys: A review. *Surfaces and Interfaces* **18**, 100441 (2020).
  182. Lepienski, C. M. & Foerster, C. E. Nanomechanical Properties by Nanoindentation. *Encycl. Nanosci. Nanotechnol.* **10**, 1–20 (2003).
  183. Mante, F. Nanoindentation studies of titanium single crystals. *Biomaterials* **20**, 1051–1055 (1999).
  184. Zwick/Roell. ZHN Nanoindenter. (2017).
  185. Vistica, D. T., Monks, A., Pittman, A. & Boyd, M. R. Tetrazolium-based Assays for Cellular Viability: A Critical Examination of Selected Parameters Affecting Formazan Production. *Cancer Res.* **51**, 2515–2520 (1991).
  186. Maehara, Y., Anai, H., Tamada, R. & Sugimachi, K. The ATP assay is more sensitive than the succinate dehydrogenase inhibition test for predicting cell viability. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* **23**, 273–276 (1987).

## 10 Trabalhos realizados durante o doutorado

### Artigos publicados

| n  | year | Scientific Journals  | Author position            | Article title   |
|----|------|--|----------------------------|---|
| 13 | 2020 | Carbohydrate polymers                                      | coauthor                   | Effect of cellulose size-concentration on the structure of polyvinyl alcohol hydrogels  |
| 12 | 2020 | Surface & coatings technology                              | First/corresponding author | Oxide coating containing apatite formed on Ti-25Nb-25Ta alloy treated by Two-Step Plasma Electrolytic Oxidation.                    |
| 11 | 2019 | Advanced engineering materials                             | coauthor                   | Enhancement of Mechanical Properties and Wettability of TiO <sub>2</sub> NT Arrays Formed in Simulated Body Fluid-Based Electrolyte |
| 10 | 2019 | Journal of alloys and compounds                            | coauthor                   | Tribo-mechanical properties and cellular viability of electrochemically treated Ti-10Nb and Ti-20Nb alloys                          |
| 9  | 2018 | Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials | First/corresponding author | Niobium treated by Plasma Electrolytic Oxidation with calcium and phosphorus electrolytes   |
| 8  | 2017 | Materials science & engineering c                          | First/corresponding author | Apatite grown in niobium by two-step plasma electrolytic oxidation  |

## Capítulos de livro aceitos

| n | year | Book   | Author position | Book Chapter Published  |
|---|------|--|-----------------|---|
| 7 | 2019 | Applications of Nanocomposite Materials in Orthopedics -Elsevier | coauthor        | 8 - Tailoring surface properties from nanotubes and anodic layers of titanium for biomedical applications |

## Capítulo de livro aceito e aguardando publicação

| n | Year expected | Book  | Author position            | Book Chapter waiting for publishing                                  |
|---|---------------|---|----------------------------|--|
| 6 | 2021          | Polyvinyl alcohol based Biocomposites and Bionanocomposites | First/corresponding author | BioMedical Applications of Polyvinyl alcohol based Bionanocomposites |

## Artigo aceito para publicação

| n | year | Scientific Journals |                            | Article title   |
|---|------|---------------------|----------------------------|---|
| 5 | 2020 | Materia (UFRJ)      | First/corresponding author | Ti-25Nb-25Ta alloy treated by plasma electrolytic oxidation in phosphoric acid for implant applications |

Artigos submetidos em 2020, Status: Under revision or waiting for reviewer's assignment.

| n | year | Scientific Journals | Author position | Article title |
|---|------|---------------------|-----------------|---------------|
|   |      |                     |                 |               |

|   |      |                                  |                            |   |
|---|------|----------------------------------|----------------------------|---|
| 4 | 2020 | Materials today communication    | First/corresponding author | Scratch-resistant and well-adhered nanotube arrays produced via anodizing process on $\beta$ -titanium alloy  |
| 3 | 2020 | Materials research               | First/corresponding author | Titanium-Niobium alloys with high Nb amounts for applications in biomaterials   |
| 2 | 2020 | Results in Materials             | coauthor                   | Development, characterization and cell viability inhibition of osteosarcoma cells by PVA spheres loaded with Doxorubicin and 4'-amino-1-Naphthyl-Chalcone (D14) |
| 1 | 2020 | Journal of Materials Chemistry B | coauthor                   | Effect of thermal annealing on a bilayered polyvinyl alcohol and polyacrylic acid   |